

Aus der Herzchirurgischen Klinik und Poliklinik der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Christian Hagl

Die experimentelle Anwendung der Therasorb LIFE 18 TM
Immunadsorptionseinheit im Rahmen der
xenogenen heterotopen Herztransplantation Pig-to-Baboon

Dissertation
Zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Rebecca Maria Pargner
aus
Starnberg
2017

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Bruno Reichart

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Thomas Nickel

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Prof. Dr. med. Paolo Brenner

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 01.06.2017

Inhaltsverzeichnis

I. EINLEITUNG	5
1. Hürden der Xenotransplantation	5
2. Fragestellung	7
II. MATERIAL UND METHODEN	8
II.1. Spendertiere	8
II.2. Empfängertiere	8
II.3. Operationstechniken	9
II.3.a Spenderoperation	9
II.3.b Empfängeroperation	10
II.4. Postoperative Überwachung und Therapie	12
II.4.a Apparative Überwachung	12
II.4.b Laborchemische Untersuchungen	13
II.4.c Medikamentöse Therapie	14
II.5. Aufbau und Funktionsmechanismus der Therasorb LIFE 18™ Aphereseeinheit	16
II.6. Euthanasiekriterien	19
III. ERGEBNISSE.....	20
III.1. Allgemeine Hinweise.....	20
III.2. Überlebenszeiten und Todesursachen	20
III.3. Blutverdünnende Maßnahmen vor und während der Behandlung mit der Aphereseeinheit	21
III.4. Spülvolumina im Rahmen der Immunapherese	21
III.5. Technische Apheresedaten.....	22
III.6. Verlauf des Blutdrucks während der Apherese	23
III.7. Veränderung der hämatologischen Parameter	24
III.8. Absenkung der Antikörper	26
III.9. Postoperative Verläufe der Antikörperspiegel	27
III.10. Medikamentöse Immunsuppressive Therapie von Pavian 31 bis 40.....	33
III.11. Verlauf der Herzenzyme und histologische Befunde der Paviane 31 bis 40	35
IV. DISKUSSION	38
IV.1. Vergleich zwischen alphaGal- und non-Gal-Antikörpern und ihre Rolle bezüglich der Xenograft-Abstoßung.....	38
IV.2. Möglichkeiten der Immunadsorption.....	39
IV.3. Diskussion der Ergebnisse.....	41
IV.3.a Vergleich der Gruppen	42

IV.3.b Belastung des Organismus durch die Apherese	43
IV.4. Veränderungen und Vorteile der Therasorb Life 18 Aphereseeinheit gegenüber dem Vorgängermodell	44
V. ZUSAMMENFASSUNG	48
VI. LITERATURVERZEICHNIS	50
VII. ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	57
VIII. DANK.....	58

I.EINLEITUNG

I.1 Hürden der Xenotransplantation

Die Etablierung der allogenen Herztransplantation als therapeutische Maßnahme bei schweren Herzerkrankungen kann ohne Zweifel als herausragender Fortschritt betrachtet werden. Jedoch liegt es in der Natur der Sache, dass diese Therapieoption nur begrenzt durchführbar ist. Die Anzahl der für eine Transplantation geeigneten menschlichen Spenderorgane unterschreitet bei weitem den Bedarf. Trotz der Bemühungen, die Situation zum Beispiel durch den Einsatz von Herzunterstützungssystemen zu entschärfen, stellt das Sterben auf der Warteliste weiterhin ein immenses Problem dar. Die Möglichkeit, xenogene Organe, also Organe fremder Spezies, für den Menschen als Spenderorgane verfügbar zu machen, könnte diese Lücke endgültig schließen. Der Gebrauch von sogenannten konkordanten, also artverwandten, Xenotransplantaten, die immunologisch besser vom menschlichen Organismus toleriert werden könnten, muss vor allem aufgrund ethischer Überlegungen ausgeschlossen werden (3,20,34). Zudem stellen durch Paviane übertragbare Infektionserkrankungen, wie etwa SIV, Herpes S6, Tuberkulose, Tollwut oder Hepatitis A/B, ein zu hohes Risiko dar (15). So muss auf diskordante, artfremde Organe zurückgegriffen werden. Wegen der hohen Organähnlichkeit und den günstigen Aufzuchtbedingungen stellte sich im Laufe der Entwicklung der Xenotransplantation das Schwein als am besten geeigneter Spender heraus. Erste Versuche an Primaten zeigten jedoch, dass das transplantierte Schweineherz innerhalb kürzester Zeit abgestoßen wurde. Als Ursache dafür konnte im Rahmen späterer Forschungen die Interaktion bestimmter Antikörper mit einem auf den Endothelzellen des Schweineherzens befindlichen Oberflächenmolekül herausgestellt werden (18, 25, 26, 27, 28, 29). Es handelt sich dabei um sogenannte alpha-Gal-Epitope. Der Mensch, sowie auch Altweltaffen, besitzen diese Epitope nicht. Man vermutet, dass Mikroorganismen im Gastrointestinaltrakt diese Oberflächenmoleküle präsentieren und der menschliche Organismus spezifisch dagegen gerichtete anti-Gal-Antikörper entwickelt. Cooper bemerkt, dass einige Parasiten, Bakterien und Viren ebenfalls alpha-Gal-Epitope aufweisen und Antikörper gegen dieses Molekül wahrscheinlich eine bedeutende Rolle für das natürliche Immunsystem haben. Wird nun das Herz eines Schweines in einen Primaten, wie etwa einen Pavian, verpflanzt, binden die anti-alphaGal-Antikörper an die entsprechenden Oberflächenmoleküle des Schweineherzens, bzw. dessen Gefäßendothel. Durch diesen Vorgang wird vor allem der C1-vermittelte, klassische

Weg des Komplementsystems aktiviert und eine Freilegung der subendothelialen Matrix hervorgerufen. Durch die Aktivierung der Endothelzellen geht zusätzlich der Einfluss antithrombotischer Moleküle wie Thrombomodulin und ATPDase verloren und es werden proinflammatorische Faktoren und Cytokine freigesetzt (6). Insgesamt entwickelt sich so eine prothrombotische Umgebung, die schließlich in Gefäßthrombosen, Myokardinfarkten und infolgedessen innerhalb weniger Stunden in einer Organabstoßung endet.

Mit der Überwindung dieser sogenannten hyperakuten Abstoßung (HAR) haben sich bereits viele Forschungsgruppen weltweit befasst. Schon früh setzte man bei der Depletion der gegen die Gal-Epitope gerichteten Antikörper an (18). Aktuell tendiert man zur Verwendung von transgenen Schweineherzen, die durch genetische Manipulation keine Gal-Epitope auf ihrer Oberfläche präsentieren. Somit können die entsprechenden Antikörper nicht mit diesen Epitopen interagieren und eine Abstoßung wird umgangen. Durch die Verwendung von GalKO-Organen kann die HAR abgewendet werden (44), dennoch zeigte sich in Rahmen weiterer Versuche, dass dies zur Vermeidung einer Abstoßung nicht ausreichend ist. Shimitzu zeigte an acht Transplantationen von GalKO-Organen in Verbindung mit der Gabe von Immunsuppressiva, dass zwar eine HAR vermieden werden kann, sich jedoch eine später stattfindende, akut vaskuläre Organabstoßung (AVR) ergibt (64). Bei der AVR sind also nicht antiGal-Antikörper, sondern nonGal-Antikörper ausschlaggebend (14,44). Bei Primaten handelt es sich dabei hauptsächlich um Antikörper vom IgM-Subtyp, bei Menschen um IgM und IgG (14).

Während bei der HAR die Aktivierung des Komplementsystems im Vordergrund steht, ist der Schlüsselpunkt der AVR die Aktivierung porciner Endothelzellen (EC) durch das Andocken induzierter humaner xenogener Antikörper an die Endothelzellmembran, sowie die Infiltration des Gefäßendothels mit Leukozyten und natürlichen Killerzellen (NK) (56). Die Aktivierung der EC führt zu einer gesteigerten Synthese von Adhäsionsmolekülen und zur Freisetzung von Serumproteasen und proinflammatorischen Faktoren, was die Endotheloberfläche in einen prothrombotischen Zustand bringt. Das durch die Adhäsion von IgG/IgM und NK verletzte Endothel präsentiert den Tissue Faktor (TF) und Kollagen, sodass der Faktor VII der Blutgerinnungskaskade an TF binden und zur Umwandlung von Prothrombin in Thrombin führen kann. Zusätzlich fördert das freigelegte Kollagen die Aktivierung und Akkumulation von Blutplättchen (61). Zu beachten ist bei diesem Prozess vor allem auch die Rolle der NK-Zellen, die für sich allein genommen, aber auch im Zusammenspiel mit bereits adhären

xenogenen Antikörpern die EC lysieren können (56). Diesen Vorgang bezeichnet man als antibody-dependend cellular cytotoxicity (ADCC). Insgesamt führen die beschriebenen Prozesse zu Gefäßthrombosen, Ödemen und als letzte Konsequenz zur Abstoßung des Transplantats innerhalb weniger Tage bis Wochen.

Eine Möglichkeit, die Bindung von den zur AVR führenden Antikörpern zu verhindern, ist die Depletion dieser Antikörper. Eine recht spezifische Möglichkeit der Antikörperdepletion ist die Immunapherese. Diese findet in der Klinik bereits bei Autoimmunkrankheiten wie etwa Vaskulitiden (Schneider 1997/98), SLE (Euler 1997), dem Guillain-Barré-Syndrom oder Myasthenia gravis (Banyai 1997) therapeutische Anwendung. Im Vergleich zu anderen Filtrationsmechanismen, wie etwa der Doppelfiltrationsplasmapherese, die schon u.a. von Suga und Lee im Rahmen der Xenotransplantation experimentell angewendet wurde (Suga; Lee 2012), hat die Immunapherese den Vorteil, dass durch die hochspezifische Antikörperfiltration andere Plasmabestandteile, wie etwa Proteine, erhalten bleiben. Lin et al. konnten bereits die große Effizienz der Immunapherese zur Filtration xenoraktiver Antikörper nachweisen (45).

1.2. Fragestellung

Die vorliegende Arbeit befasst sich nun mit der experimentellen Anwendung der Immunadsorption im Rahmen der xenogenen heterotop thorakalen Herztransplantation im Schwein-Pavian-Modell. Es sollen die Vorzüge und die Effizienz der Immunapherese mit einer weiterentwickelten Aphereseeinheit herausgestellt werden. Außerdem wird ein Vergleich zu einem von der Forschungsgruppe Prof. Reichart/Prof. Brenner in früheren Versuchsreihen verwendeten Vorläufermodell angestellt bezüglich der Minimierung von Behandlungsproblemen und der Effizienz der Antikörperfiltration.

II. MATERIAL UND METHODEN

II.1. Spendertiere

Bei den Spendertieren handelte es sich um eigens für Tierversuche gezüchtete deutsche Landrasseschweine, die aus dem Institut für Molekulare Tierzucht und Biotechnologie der LMU (Feodor-Lynen-Str 25, D-81377 München, Deutschland bzw. Moorversuchsgut, Hackestr. 27, 85764 Oberschleißheim) bezogen wurden. Bis zum Versuchstag hatten sie ein Alter von 7-8 Wochen und ein Gewicht von 10-15 kg erreicht. Sechs dieser Tiere waren doppeltransgen (alphaGal-KO/hCD46), die restlichen wiesen Tripel-Transgenität auf (alphaGal-KO/hCD46/TM). Die Tiere erhielten Pelletfutter, Obst, Gemüse und Vollkornprodukte, sowie Trinkwasser ad libitum. Die Innenboxen (1,5x2m) waren mit Stroh ausgelegt, dem trockene Nudeln als Enrichment beigelegt war. In den Außenausläufen (4x4m) befanden sich zusätzlich Tierbälle.

II.2. Empfängertiere

Die Empfängertiere waren Paviane der Rasse Papio anubis bzw. Papio hamadryas mit einer Größe von 90-120 cm und einem Gewicht von 13-28 kg. Bezogen wurden sie aus dem Deutschen Primatenzentrum Göttingen GmbH (Kellnerweg 4, 37077 Göttingen, Deutschland) und dem Centre de la Recherche Scientifique (CD 56, 13790 Rousset-sur-Arroun, Frankreich). Während der intensivmedizinischen Betreuung befanden sich die Tiere in Rollkäfigen mit Sitzgelegenheit (1,86m Breite x 1,66m Länge x 1,48m Höhe), nach Stabilisation wurden sie in stationäre Käfige mit Sichtkontakt zu den Artgenossen (1,7m Breite x 2m Länge x 2,3m Höhe) verbracht. Die Tiere erhielten ein Standard-Trockenfutter, sowie Obst, Gemüse und Vollkornprodukte. Ausserdem wurden durch die Betreuer frische Kräuter wie etwa Basilikum und Zitronenmelisse angeboten. Freier Zugang zu Trinkwasser und Futter wurde gewährleistet. Die Innenkäfige enthielten Bälle, Schaukeln aus Motorradreifen und von der Decke hängende Schlagbälle. Präoperativ bestand auch für zwei Stunden täglich Zugang zum Außenauslauf (4m Breit x 4m Läng x 3m Höhe), der mit Kletter- und Schwingseilen ausgestattet war.

II.3. Operationstechniken

II.3.a Spenderoperation

Präoperative Untersuchungen

14 Tage vor der Operation wurde das Spendertier mit der intramuskulären Applikation von 10-20 mg/kg Ketaminhydrochlorid (Ketavet, Pharmacia GmbH, Berlin, Deutschland) , 10 mg/kg Azaperon (Stresnil, Janssen Animal Health, Neuss, Deutschland) und 0,025 mg/kg Atropinsulfat (Atropinsulfat Braun, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) narkotisiert und mittels Auskultation und transthorakaler Echokardiographie (TTE) auf Infektionszeichen untersucht. Zusätzlich wurde Blut aus der V. jugularis zu Zwecken der Blutanalyse entnommen.

Am dritten präoperativen Tag wurde zusätzlich eine transösophageale Echokardiographie (TEE) im Vergleich zur TTE verbesserten orientierenden Untersuchung durchgeführt. Zur Narkose wurde die oben beschriebene i.m. Narkose verwendet und eine Narkosevertiefung mit 20 mg/Tier Propofol (Propofol 2%, Fresenius Kabi GmbH, Bad Homburg, Deutschland) und 0,5 mg/Tier Fentanyl, zugeführt über eine intravenöse Verweilkanüle (22G, Introcan-Safety, B. Braun Melsungen AG, Melsungen), erreicht. Nach erreichter Vertiefung der Narkose wurde die endotracheale Intubation (Safety-Flex-Tubus, Mallinckrodt, Athlone, Ireland) vorgenommen und mit einem Sauerstoff-Luft-Gemisch (Siemens Servo Ventilator 900C, System Siemens-Elema, AB, Solna, Schweden) maschinell beatmet. Die Narkosefortführung wurde mittels eines Propofol-Perfusors mit 7 mg/kg/h erreicht.

Explantation

Die Narkoseeinleitung und –fortführung, die Intubation und die Beatmung erfolgten wie oben bereits beschrieben. Zur perioperativen Überwachung wurde ein 3-Kanal-EKG (Siemens SC 8000, Siemens, Deutschland) angebracht und über einen Zugang (20G leader cath, VYGON, Ecoen, Frankreich) in der Arteria femoralis eine invasive Blutdruckmessung (single dome set, Becton Dickinson, Singapur und Sirecust 304D) durchgeführt. Über denselben arteriellen Zugang konnte Blut für die Blutgasanalyse (Siemens Diagnostics 348, Siemens, Deutschland) gewonnen werden. Zur Volumensubstitution wurde noch ein venöser Zugang (22G, Intracon-Safety, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) gelegt. Bevor der Thorax geöffnet wurde, wurde mit einem Bolus von 0,0025 mg/kg Fentanylhydrogencitrat eine Analgesie gewährleistet. Dieser Bolus konnte bei Bedarf alle 30 Minuten wiederholt werden.

Nach der Thorakotomie und Präparation des Situs wurde das Herz mit 50 ml/kg KG HKT-Lösung nach Bretschneider (Custodiol, Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Alsbach-Hähnlein, Deutschland) kardioplegiert. Nach Ligatur und Übernähung der V. cavae und Separation der Aorta ascendens und des Truncus pulmonalis konnte das Herz entnommen werden. Bis zur Implantation in den Empfängersitus wurde das Transplantat geringfügig modifiziert und eingepackt in einem eigens dafür vorgesehenen sterilen Transplantationsbeutel, in Eiswasser verwahrt.

II.3.b Empfängeroperation

Präoperative Untersuchungen

Es wurde bereits präoperativ mit einer immunsuppressiven Therapie begonnen, die später näher beschrieben wird. Hierfür und im Rahmen der präoperativen Untersuchungen auf Infektionen wurden die Tiere mittels intramuskulärer Applikation von 10mg/kg KG Ketaminhydrochlorid und 0,5 mg/kg Midazolam (Midazolam-ratiopharm, Ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland) sediert.

Am zweiten präoperativen Tag erfolgte das Anlegen der Katheter, wozu das Tier wie eben beschrieben zunächst intramuskulär sediert wurde. Nach Verbringung in den OP-Saal unter pulsoxymetrischer Überwachung und Legen einer peripher-venösen Verweilkanüle (18G, Introcan-Safety, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) wurde zur Aufrechterhaltung der Narkose 0,05 mg Fentanyl Dihydrogencitrat und je nach Körpergewicht 1,5 bis 2,5 mg/kg KG Propofol intravenös appliziert. Anschließend erfolgte die endotracheale Intubation (5,0 bis 6,5 Hi-Lo Lanz, Mallinckrodt, Athlone, Ireland) und die maschinelle Beatmung mit einem Sauerstoff-Luft-Gemisch (Servo Ventilator 900C, Siemens-Elema, Schweden). Zum Monitoring wurde ein 6-Kanal-EKG (Siemens SC 8000, Siemens, Deutschland) abgeleitet und mittels eines Katheters in der Arteria femoralis (5 F, Pulsio cath Thermodilutionskatheter, Pulsion Medical System AG, München, Deutschland) sowohl eine invasive Blutdruckmessung (single dome set, Becton Dickinson, Singapur, Sirecust 960) und die Bestimmung des Herz-Minuten-Volumens (Picco, Pulsion Medical System AG, München, Deutschland) gewährleistet, als auch ein Zugang zur Blutabnahme für die arterielle Blutgasanalyse geschaffen. Mittels eines Blasenkatheters (Uromed Ballonkatheter, Kurt Drews GmbH, Oststeinbeck, Deutschland) bestand während der Narkose die Möglichkeit der Volumenbilanzierung.

Anlage des zentralvenösen Katheters und Immunabsorption

Die zentralvenöse Katheteranlage erfolgte zwei Tage vor der geplanten Operation. Hierzu wurde die linke V. jugularis externa präpariert und inzidiert und sowohl ein 1-Lumen Katheter (14 G, Arrow International, Reading, USA), als auch ein 2-Lumen Katheter (14 G, Logicath, Smith Medical GmbH, Grasbrunn, Deutschland) eingelegt. Über diese Katheter konnte im Anschluss bei Pav 35 bis 41 die erste Immunadsorption (TheraSorb Life 18, MACS, Bergisch Gladbach) durchgeführt werden. Pavian 31 bis 34 wurden nur direkt präoperativ mit Immunapherese vorbehandelt. Der genaue Aufbau und das Verfahren werden später noch eingehend besprochen. Zur CMV-Infektionsprophylaxe und zur Vermeidung eines Wiederaanstiegs der xenoreaktiven Antikörper im Rahmen eines Rebound-Effekts wurde zusätzlich noch Cytotect (Cytotect CP Biotest 100 E/ml Infusionslösung, Biotest Austria GmbH, Wien, Österreich), ein Präparat mit Immunglobulinen aus gepoolten Humanserum, appliziert. Dieses Medikament findet auch in der Klinik Anwendung bei transplantierten oder immunsupprimierten Patienten. Mit der Katheteranlage wurde auch mit der allgemeinen Infektionsprophylaxe mit 750 mg/Tier/d Cefuroxim-Natrium (Cefuroxim 1500 BRAHMS, B.R.A.H.M.S. Arzneimittel GmbH, Wiesbaden, Deutschland) begonnen. Noch in Narkose wurde dem Tier ein Pavian-Jacket angepasst, um den Katheter darunter zu verbergen. Nach Narkoseausleitung und unter Überwachung der Vitalparameter wurde das Tier in einen Rollkäfig verbracht.

Transplantation

Nach Narkoseeinleitung und –erhaltung wie oben bereits beschrieben und Öffnung des Thorax, wurde durch die Verabreichung von 500 IE/kg Heparin-Natrium eine systemische Vollheparinisierung erreicht und das Tier konnte an eine speziell für diese Versuche vorgesehene Herz-Kreislauf-Maschine (mit Oxygenator Hilite 2800, Medos, Stolberg, Deutschland) angeschlossen und die extrakorporale Zirkulation gestartet werden. Anders als in früheren Versuchszyklen, bei denen eine orthotope Transplantation nach Lower und Shumway durchgeführt wurde, entschied man sich in diesem Fall für eine heterotop thorakale Transplantation, für die man im Durchschnitt etwa eine Stunde benötigte. Dabei wurden nach Präparation des Situs erst die beiden linken und dann die rechten Vorhöfe anastomosiert. Anschließend erfolgte eine End-zu-Seit-Anastomose zwischen der Aorta ascendens des Transplantats und der Aorta des Eigenherzens. Mit der End-zu-Seit-Anastomosierung der beiden Truncii pulmonalii mithilfe einer Rohrprothese (Terumo Vascutek Gelweave, Durchmesser 10 mm, Hamburg, Deutschland) konnte die Implantation abgeschlossen werden.

Zudem erfolgte während der Operation die Einbringung des Telemetrie-Systems (DSI-Monitoring, Data Science International, St. Paul, MN, USA) rechts parasternal subkutan, was eine permanente funkgesteuerte Überwachung der Herzfunktion postoperativ ermöglichte. Dazu wurden jeweils ein Druckaufnehmer in den linken Ventrikel und die Aorta ascendens eingebracht und zwei EKG-Elektroden auf das Epikard genäht. Dabei handelte es sich um die Strukturen des Transplantats. Die anschließende Reperfusionszeit betrug etwa eine Stunde und beinhaltete unter Umständen die Defibrillation (Theracard 361D, Siemens, Deutschland) des Herzens, falls die Reperfusion noch nicht zu einer Wiederherstellung der Pumpfunktion führte. Zur Antagonisierung des Heparins wurde nach einer ACT-Bestimmung eine entsprechende Dosis Protaminhydrochlorid (Protamin, Meda Pharma GmbH, Bad Homburg, Deutschland) appliziert. Nach erfolgreicher Blutstillung und Einbringung einer substernalen und wenn nötig auch pleuralen Wunddrainage konnte der Thorax mit Drahtcerclagen und schichtweisem Wundverschluss verschlossen werden. Das Tier verblieb dann noch circa eine Stunde zur Überwachung auf dem Operationstisch, um in Falle einsetzender Nachblutungen schnellstmöglich den Thorax wieder öffnen zu können. War ein stabiler Zustand erreicht worden, konnten der arterielle und der Blasenkatheter entfernt werden und der Pavian wurde in einen Rollkäfig verbracht. Dort konnte das Tier allmählich aus der Narkose erwachen, wobei die Extubation selbstständig erfolgte. Während der folgenden 24 Stunden wurde die Herz-Kreislauf-Funktion mittels EKG und Pulsoxymetrie überwacht.

II.4. Postoperative Überwachung und Therapie

II.4.a Apparative Überwachung

Direkt nach der Transplantation wurden die Tiere für 36 Stunden permanent überwacht und intensivmedizinisch versorgt. Falls der Zustand der Tiere stabil war, ging man zu einer kontinuierlichen Überwachung zwischen 6.00 und 18.00 Uhr sowie einer letzten Kontrolle am späten Abend über. Wurde der Zustand des Tieres wieder kritischer, wurde sofort wieder eine permanente Überwachung rund um die Uhr gewährleistet. Das perioperativ implantierte Telemetriesystem bot die Möglichkeit, zu jedem Zeitpunkt ein EKG abzuleiten und den linksventrikulären Druck sowie die Herzfrequenz und den Aortendruck zu überwachen. Zudem wurden täglich Blutgasanalysen durchgeführt. Mittels unter Narkose des Tieres durchgeführter transthorakaler Echokardiographie wurde wöchentlich die links- und rechtsventrikuläre Pumpfunktion des Spender- und Eigenherzens überprüft und ein evtl. aufgetretener Perikard-

oder Pleuraerguss ausgeschlossen. Ermittelt wurden dabei außerdem der intraventrikuläre Septumdurchmesser, die Herzklappenfunktion und das Vorhandensein von Endokarditiszeichen.

II.4.b Laborchemische Untersuchungen

Jeden Morgen wurden Blutabnahmen für die laborchemischen Untersuchungen gewonnen und zum einen in den Laboren des Instituts für Chirurgische Forschung, als auch im Institut für Klinische Chemie des Klinikum Großhadern untersucht. Bestimmt wurden neben den Medikamentenspiegeln der Immunsuppressiva (Tacrolimus (Prograf, Astellas Pharma GmbH, München, Deutschland), Mycophenolat-Mofetil (Cellcept, Roche, Deutschland) auch das Differentialblutbild, die Gerinnung, die Serumparameter sowie die IgG- und IgM-Spiegel. Zur spezifischen Bestimmung der Anti-Pig-Antikörper wurde ein Hämagglutinationstest durchgeführt.

Hämagglutinationstest zur Bestimmung des Anti-Pig-Antikörper-Titers

Hierbei handelt es sich um ein Verfahren, bei dem der APA-Titer über eine Verdünnungsreihe ermittelt wurde. Hierzu wurden 3 ml Pavianblut bei acht Minuten und 2500 U/min zentrifugiert. Das Serum wurde abpipettiert und zur Komplementinaktivierung 30 Minuten bei 56°C inkubiert. Anschließend wurden elf Röhrchen mit 100 µl PBS-Puffer versehen. In das erste Röhrchen wurden nun 100 µl des gewonnenen Pavianserums gegeben und mit dem Puffer vermischt. Daraus wurden dann wieder 100 µl entnommen und mit dem Puffer des zweiten Röhrchens vermischt. Dieses Verfahren wurde nun bei allen elf Röhrchen durchgeführt und das Serum somit schrittweise verdünnt. Ein zwölftes Röhrchen wurde als Kontrolle nur mit 100 µl Puffer versehen.

Zur Gewinnung von Erythrozytenkonzentrat wurden 10 ml Schweineblut bei 2500 U/min fünf Minuten lang zentrifugiert. Nach Verwerfen des Serums wurden die Erythrozyten drei Mal mit PBS-Puffer (Dublecco's Phosphate Buffered Saline, Thermo Scientific Hyclone, Waltham, MA, USA) gewaschen. 150 µl Erythrozytenkonzentrat wurden nun in 50 ml PBS verdünnt inkubiert.

100µl dieses Konzentrats wurden nun in jeweils ein Röhrchen der Verdünnungsreihe gegeben und alles dann bei 37°C 90 Minuten lang und bei 4°C 30 Minuten lang inkubiert. Nach Aufschütteln der Erythrozyten konnte die Anzahl der Aggregationen unter einem

Lichtmikroskop ausgelesen werden. Als APA-Titer diente die stärkste Verdünnung, bei der es noch zur Aggregation gekommen war.

Anti-Pig-Antibody Essay

Bei dieser Testung wurden die Messwerte des Affenserums mit denen von humanem Serum verglichen. Das Affenserum wurde durch Zentrifugation des Affenblutes bei 4000 Umdrehungen für 20 Minuten gewonnen und anschließend zusammen mit dem Humanserum bei 56°C in einem Wasserbad 30 Minuten lang hitzeinaktiviert. Anschließend wurde mit den Seren eine Verdünnungsreihe angesetzt. Dazu wurde jeweils das Affenserum und das Humanserum mit CFD-Puffer (Barbitone Complement Fixation Test Diluent, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) erst im Verhältnis 1:1,5 vermischt und dann auf einer Mikrotiterplatte über 10 Reihen verdünnt. Diese Verdünnungsreihen wurden dann mit Schweineerythrozyten eine Stunde bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde in alle Proben 100 µl CFD-Puffer gegeben und bei Raumtemperatur 10 Minuten bei 500 Umdrehungen zentrifugiert, der Überstand wurde dann abgegossen. Dieser Vorgang wurde mit 200 µl CFD-Puffer wiederholt. Nach der Zugabe von 150 µl Baby-Rabbit-Complement wurden die Proben eine weitere Stunde bei 37°C inkubiert und anschließend wieder bei Raumtemperatur für 10 Minuten bei 500 Umdrehungen zentrifugiert. Zum Auslesen wurden 100 µl des Überstands abpipettiert und in eine neue Mikrotiterpalette gegeben. Die Proben wurden in ein Absorbier-Gerät gestellt und bei 420 nm ausgewertet

II.4.c Medikamentöse Therapie

Schmerztherapeutika

Die postoperative analgetische Behandlung erfolgte mittels perfusorgesteuerter Applikation (1ml/kg/h) von 0,5 mg Fentanyl und 60 mg Ketamin pro 500 ml Infusionslösung. Zusätzlich wurden bei Bedarf Piritramid (2x 0,05-0,1 mg/kg/d Dipidolor, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) und Metamizol-Natrium (250-500 mg Novaminsulfon-ratiopharm, Ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland) verabreicht und bis zum 10. postoperativen Tag ausgeschlichen.

Immunsuppressive Therapie

Um den Organismus des Empfängertieres auf die bevorstehende Transplantation vorzubereiten, wurde bereits 4 Wochen vor der Operation mit einer immunsuppressiven Therapie begonnen. Ab dem 28. präoperativen Tag wurde mit der intravenösen Applikation von 500 mg Rituximab (MabThera, Roche, Deutschland) alle 14 Tage und 1,3 mg/m² Bortezomib (Velcade, Janssen-Cilag International, Beerse, Belgien) begonnen. Der

Therapierhythmus wurde für Rituximab ab dem Tag der Transplantation auf Applikation alle 7 Tage umgestellt, die Verabreichung von Bortezomib wurde nach Erstgabe am vierten, achten und elften Tag wiederholt. Dabei wurde Bortezomib mit 40 mg/kg KG Dexamethason (Dexamethason-ratiopharm, Ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland) kombiniert und entsprechend des Bortezomib-Zyklus am 1.-5., 9.-12. und 17.-20. Tag subkutan gegeben.

Als Basistherapeutika wählte man Tacrolimus (Prograf, Astellas Pharma GmbH, München, Deutschland), Mycophenolat Mofetil (MMF) (Cellcept, Roche, Deutschland) und Methylprednisolon (Urbason, Sanofi Aventis, Frankfurt am Main, Deutschland) nach folgendem Therapieschema:

Alle Basistherapeutika wurden intravenös über das Tethering-System verabreicht. Die Tacrolimus-Gabe erfolgte täglich kontinuierlich, wobei ein Zielspiegel von 10-20 ng/ml angestrebt wurde. Um den Zielspiegel von 2-3µg/ml MMF zu erreichen, wurde dieses Medikament zweimal täglich appliziert. Am Operationstag, sowie am 1. und 2. postoperativen Tag wurde mit Methylprednisolon in einer Dosierung von 10 mg/kg KG begonnen und anschließend täglich reduziert, bis eine Erhaltungsdosis von 0,3 mg/kg KG erreicht worden war.

Wenn die oben beschriebenen Untersuchungen Hinweise auf eine Transplantatabstoßung lieferten, wurde mit einer „rescue-Therapie“ begonnen. Diese bestand aus einer dreitägigen Gabe von 10 mg/kg KG Methylprednisolon als i.v.-Bolus, sowie 1,5 mg/kg KG Anti-Human-T-Lymphozyten-Globulin (ATG-Fresenius S, Fresenius HemoCare Immune Therapy GmbH, Gräfelfing, Deutschland) über eine perfusorgesteuerte 24-stündige Applikation an fünf aufeinanderfolgenden Tagen. Zusätzlich wurde eine weitere Immunadsorption durchgeführt und falls erforderlich mit einem weiteren Zyklus der Bortezomib-Dexamethason-Kombination begonnen.

II.5. Aufbau und Funktionsmechanismus der Therasorb LIFE 18™ Aphereseeinheit



Abb. 1 Therasorb LIFE 18™ Aphereseeinheit

Die Therasorb LIFE 18™ Aphereseeinheit besteht aus einem System zur extrakorporalen Plasmapherese, dass zusammen mit einem LIFE 18-Disk Separator, dem LIFE 18-Theraline Schlauchsystem und zwei regenerierbaren Therasorb Adsorbersäulen eingesetzt wird. In diesem Fall wurden die Therasorb Ig flex Säulen eingesetzt.



Abb. 2 Ableitung des Patientenbluts für die Apherese aus dem zentralvenösen Katheter

Über einen venösen Zugang wird heparinisiertes Patientenblut zum Plasmaseparator geleitet, der das Vollblut in Plasma und zelluläre Bestandteile aufteilt. Über zwei Filtermembranen wird hier das Plasma aus dem Vollblut herausgefiltert. Eine rotierende Aluminiumscheibe, die sich zwischen den Filtermembranen befindet und mittels elektromagnetischer Induktion angetrieben wird, stellt sicher, dass zelluläre Bestandteile von der Membran fernbleiben.

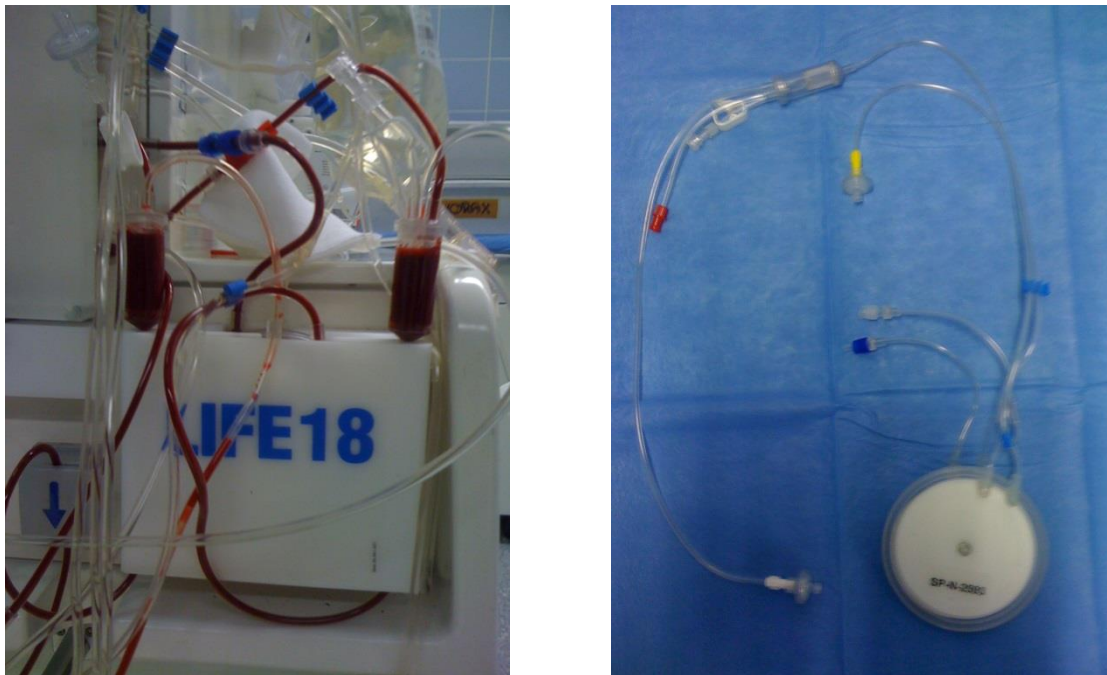


Abb. 3 Therasorb-Disk Separator, rechts vor Benutzung, links während einer Apheresebehandlung.

Das Plasma wird nun zu der ersten Adsorbersäule geleitet, wo nun die eigentliche Immunadsorption stattfindet. Das Prinzip basiert auf der Antigen-Antikörper-Bindung. Aus sensibilisierten Schafseren stammende Immunglobuline werden mit ihrer Fc-Region an Sepharosekügelchen gebunden. Diese Immunglobuline sind gegen die κ - und λ -Leichtketten, sowie gegen die schweren Ketten menschlicher Immunglobuline gerichtet (Brenner et al. 2000) und ermöglichen somit die spezifische Bindung von IgG, IgM, IgA und von Immunkomplexen. Sind nun alle Sepharose-Antikörper-Komplexe mit humanen Immunglobulinen gebunden, wird mittels einer Regenerationslösung aus PBS-Puffer und Glycin die Adsorbersäule regeneriert. Die Abfalllösung wird in einen separaten Beutel geleitet. Während die eine Säule regeneriert wird, kann simultan die andere Säule beladen werden, was eine kontinuierliche Filtrierung ermöglicht. Das gereinigte Plasma wird nun wieder mit den zellulären Blutbestandteilen vermischt und dem Patienten über das ableitende Schlauchsystem zugeführt.



Abb. 4 Therasorb Ig flex Adsorber

Um Komplikationen bei der Behandlung vorzubeugen, verfügt die LIFE 18™ Aphereseeinheit über Sensoren, die permanent den Druck im Schlauchsystem ermitteln und das System auf Lufteinschlüsse oder Hämolyse überprüfen. Kommt es beispielsweise zu einer Hämolyse, geben die Sensoren einen Alarm ab und die Behandlung wird gestoppt. So kann rechtzeitig eingegriffen und das System gespült werden. Der Benutzer wird über einen Touchscreen über die einzelnen auszuführenden Schritte informiert und durch die Behandlung geführt. Während der Apherese zeigt die Software kontinuierlich wichtige Parameter wie die Druckverhältnisse im zu- und abführenden Schlauchsystem, die Zyklenzahl, die verbleibende Behandlungszeit und das behandelte Plasmavolumen sowie den Adsorberdruck an.



Abb. 5 Anzeige während der Behandlung

II.6. Euthanasiekriterien

Eine wichtige Voraussetzung für die Bestimmung der Abbruchkriterien war die enge Zusammenarbeit und Abstimmung mit dem zuständigen Tierarzt. Hauptkriterium war dabei die Fragestellung, ob ein für das Tier unzumutbares Leiden besteht oder eine mit dem Leben nicht vereinbare Verschlechterung des Allgemeinzustandes bestand. Um die Einschätzung zu erleichtern, wurde ein Score Sheet erstellt. War ein absolutes Abbruchkriterium erfüllt oder erreichte der Score mindestens 24 Punkte, wurde die Euthanasie eingeleitet. Dazu wurden folgende Kriterien betrachtet: Körpergewicht, Körpertemperatur, Herzfrequenz, Atemfrequenz, Hämoglobin über lange Zeit unter 5 mg/dl als metrische Abbruchkriterien und persistierende Diarrhoe, Erbrechen, Dyspnoe, Selbstverstümmelung sowie ein somnolenter Zustand, abnorme Reaktionen auf einen Stimulus, abnorme Körperhaltung, struppiges Fell und geschlossene Augenlider als parametrische Abbruchkriterien. Zur Euthanasie wurden die Tiere wie bereits beschrieben in Narkose versetzt, einer letzten echokardiographischen Untersuchung unterzogen und schließlich mittels intravenöser Verabreichung von 50-60 mg/kg KG Pantobarbital-Natrium (Narcoren, Merial, Halbergmoos, Deutschland) getötet.

III. ERGEBNISSE

III.1. Allgemeine Hinweise

Im Folgenden werden nun die Ergebnisse für neun Paviane dargestellt, die alle heterotop thorakal transplantiert wurden. Sie werden mit den Nummern 31 bis 40 benannt und mit Pav für Pavian abgekürzt (z.B. Pav 31).

III.2. Überlebenszeiten und Todesursachen

Folgende Tabelle gibt anhand der postoperativen Tage (POD) eine Übersicht über die Überlebenszeiten von Pav 31 bis Pav 40, sowie über die Anzahl der durchgeführten Immunapheresen und die Apheresezeitpunkte.

Pav	OP-Datum	Größe (cm)	Gewicht (kg)	POD	Apheresen	Gruppe *
31	05.10.2009	120	20	0	1	1
32	08.10.2009	110	24	50	2	1
33	08.02.2010	100	18	4	1	1
34	10.02.2010	120	28	2	1	1
35	02.06.2010	90	18	23	3	2
36	10.06.2010	110	19	1	2	2
37	21.10.2010	110	24	15	4	2
38	27.10.2010	120	27	18	5	2
39	17.02.2011	110	24	12	4	2
40	24.02.2011	110	27	19	5	2

*Die Tiere der Gruppe 1 erhielten ausschliesslich präoperativ am OP-Tag eine Apherese, die Tiere der Gruppe 2 erhielten zusätzlich noch zwei Tage zuvor im Rahmen der bereits oben beschriebenen ZVK-Anlage eine Apherese.

Tabelle 1. Überlebenszeiten und Anzahl der Behandlungszyklen von Pavian 31 bis 40

Auf die jeweilige Todesursache des Tieres liess sich anhand der Sektionsbefunde schliessen. Pav 31 verstarb unmittelbar nach der OP. Hierbei muss darauf hingewiesen werden, dass es sich bei der xenogenen heterotop-thorakalen Herztransplantation um ein äußerst komplexes Verfahren handelt. Zum einen ist die Operation an sich sehr diffizil und das Tier muss über einen längeren Zeitraum an einen extrakorporalen Kreislauf angeschlossen werden. Zum anderen sind auch die Anforderungen an die Anästhesie und die erforderliche medikamentöse Behandlung ein Balanceakt. All das bedeutet eine enorme Belastung für das Tier und seinen Organismus – Komplikationen müssen daher in Kauf genommen werden und führen z.T. zum Tod des Tieres und damit zur frühzeitigen Beendigung des Versuches. Dies war der Fall bei

Pav 31. Auch Pav 36 konnte postoperativ nicht ausreichend stabilisiert werden und verstarb einen Tag nach der OP.

Bei Pav 32 zeigten sich bei ausgeprägter linksventrikulärer Hypertrophie bei Sektion keine Anzeichen für eine humorale oder zelluläre Abstoßung. Dennoch ließ sich an POD 50 im Herzultraschall ein Transplantatversagen feststellen. Das Tier wurde daraufhin euthanasiert.

Pav 33 erlitt an POD 4 einen plötzlichen Herz- und Atemstillstand, der sich trotz Defibrillation nicht beheben ließ. Auch bei Pav 34 stellte sich an POD 2 eine Asystolie ein, die trotz Reanimationsversuchen fortbestand. Bei beiden Tieren schloss man bei der Sektion auf ein hypoxisch-ischämisches Geschehen.

Pav 35 verstarb an einem fronto-temporalen Hirninfarkt mit einem Durchmesser von 2x1 cm.

Bei Pav 37 schloss man als Todesursache auf ein fronto-temporales Hirnödem.

Pav 39 erlitt an POD 12 einen plötzlichen Bluthusten, auf den ein Herzstillstand folgte. Das Tier konnte nicht reanimiert werden. Todesursache war laut Sektionsbefund ein akutes Rechtsherzversagen.

III. 3. Blutverdünnende Maßnahmen vor und während der Behandlung mit der Aphereseeinheit

Bei Pav 31 bis 34 beschränkte man sich auf die Gabe von Heparin, da es bei der sonst für Immunapheresen üblichen Gabe von ACD-A zu Hypokalzämien kommen kann, die sich negativ auf das Transplantatüberleben sowie auf den gesamten Organismus auswirken können. Die Verabreichung von Heparin erfolgte gewichtsadaptiert. Zu Beginn der Behandlung wurde eine Dosis von 60 I.E./ KG kg als Bolus gegeben, anschließend erhielt das Tier 40 I.E./KG kg/h über einen Perfusor. Nach der Behandlung wurde Heparin mit einer entsprechenden Dosis Protamin antagonisiert. Kontrolliert wurde die Blutverdünnung mittels aPTT. Bei Pav 35 bis 40 zusätzlich zu Heparin ACD-A in einem Verhältnis von 1 ml ACD-A zu 22 ml Blutvolumen verabreicht.

III. 4. Spülvolumina im Rahmen der Immunapherese

Bei jeder Behandlung wurde das gleiche Spülvolumen verwendet. Dabei handelte es sich um 100 ml Glycin/HCL-Lösung, 115 ml PBS und 90 ml NaCl.

III. 5. Technische Apheresedaten

Durchschnittlich ergab sich eine Behandlungszeit von $177,64 \text{ min} \pm 53,41 \text{ min}$ mit einer Zyklenzahl von $19,04 \pm 5,33$. Der Plasmafluss lag dabei bei $13,12 \text{ ml/min} \pm 3,83$ und der Blutfluss bei $32,75 \text{ ml/min} \pm 7,96 \text{ ml/min}$. Damit ergab sich ein mittlerer arterieller Schenkeldruck von $-66,35 \text{ mbar} \pm 49,34 \text{ mbar}$, ein venöser Schenkeldruck von $144,25 \text{ mbar} \pm 55,45 \text{ mbar}$ und ein Adsorberdruck von $37,4 \text{ mbar} \pm 10,10 \text{ mbar}$. Das durchschnittliche Patientenplasmavolumen von $942,72 \text{ ml} \pm 151,74 \text{ ml}$ wurde bei einem durchschnittlichen behandelten Plasmavolumen von $1980,08 \text{ ml} \pm 468,46 \text{ ml}$ $2,1 \text{ mal} \pm 0,49$ behandelt. Folgende Tabelle zeigt die Einzeldaten aller Apheresen.

PAV	Time	Zyklen	BF	PF	PV	Beh.PV	Faktor	ASD	VSD	Ads.D
31-1	120	25	30	14	845	1463	1,7	-11	142	53
32-1	90	22	30	15	1014	1150	1,13	3	120	56
32-2	210	35	22	13	1014	1769	1,8	-107	106	42
33-1	130	25	29	11	644	1225	1,9	-18	157	25
34-1	135	25	30	13	1265	1672	1,3	-19	126	43
35-1	161	15	33	14	718	1997	2,8	-48	126	40
35-2	234	13	30	5	718	1259	1,6	-151	300	25
35-3	188	13	25	6	718	1259	1,6	-107	88	21
36-1	130	13	38	15	783	1828	2,3	-37	130	33
36-2										
37-1	186	22	30	13	945	2179	2,3	-84	114	45
37-2	160	26	40	16	945	2419	2,6	-71	147	44
37-3										
37-4	135	17	54	23	945	2019	2,1	-53	130	50
38-1	135	17				2206	2			
38-2	135	17	40	17	1114	2206	2	-57	150	41
38-3	330	12	23	15	1114	1370	1,2	-131	296	20
38-4			40	17	1114	2488	2,2	-153	150	31
38-5	150	15	39	15	1114	1892	1,7	-143	102	36
39-1	187	20	35	13	872	2480	2,8	-37	140	42
39-2	133	16	35	13	872	1795	2,1	-34	131	31
39-3	183	15	25	10	872	2246	2,6	-28	115	35
39-4	251	18	25	10	872	2533	2,9	-41	115	35
40-1	170	22	40	15	1014	2523	2,5			

40-2	144	16	40	14	1014	2061	2			
40-3	178	21	35	15	1014	2683	2,6			
40-4	285	18	18	8	1014	2319	2,3			
40-5	281	18	30	8	1014	2441	2,4			

Tabelle 2 Technische Einzeldaten zu den Apheresebehandlungen der Paviane 31 bis 40.

Time=Behandlungszeit, BF=Blutfluss, PF=Plasmafluss, PV=Platientenplasmavolumen, beh.PV= behandeltes Plasmavolumen, Faktor=beh.PV/PV, ASD=arterieller Schenkeldruck, VSD=venöser Schenkeldruck, AdsD= Adsorberdruck

III.6. Verlauf des Blutdrucks während der Apherese

Der systolische Blutdruck konnte bei den meisten Tieren auf Werte zwischen 100 mmHg und 130 mmHg gehalten werden. Es kam dabei zu Schwankungen um $29 \text{ mmHg} \pm 14 \text{ mmHg}$, nur bei Pavian 38 zeigte sich bei der ersten IA zu einem Anstieg des Blutdrucks von 90 mmHg auf 150 mmHg. Blutdruckabfälle konnten gut mit der Substitution von Vollelektrolytlösung ausgeglichen werden. Auch die Herzfrequenzen waren zwischen 75 und 100 bpm weitestgehend stabil, nur gelegentlich kam es zu Tachykardien um 120 bpm. Die Schwankung lag durchschnittlich bei $19 \text{ bpm} \pm 13 \text{ bpm}$. In keinem Fall war der Einsatz Blutdruck- oder Frequenzregulierender Medikamente notwendig.

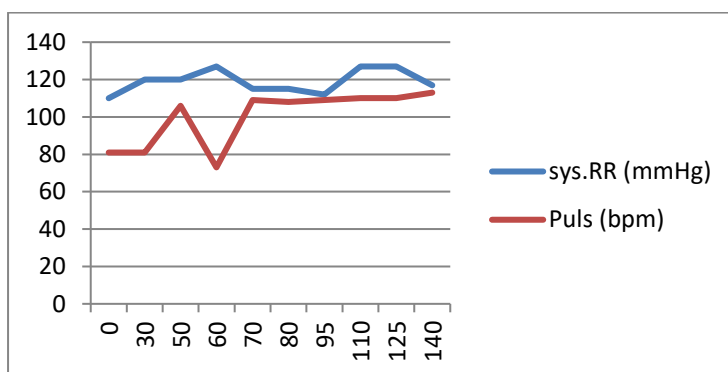


Abb. 6 Verlauf von Blutdruck und Puls bei Apherese zwei von Pavian 32

III.7. Veränderung der hämatologischen Parameter

Folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die Veränderungen der Blutparameter in Prozent während der Apherese. Pfeile nach unten bedeuten eine Absenkung, Pfeile nach oben einen Anstieg.

PAV	LZ	TZ	Hkt	Na	K	Ca	Pav	LZ	TZ	Hkt	Na	K	Ca
31-1	19↓	48↓	0	8↓	22↓	31↓	38-1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
32-1	17↑	82↓	48↓	1↓	5↑	ND	38-2	39↓	64↓	30↓	3↓	23↑	ND
32-2	35↓	22↓	17↓	2↑	5↓	ND	38-3	64↓	39↓	36↓	4↑	0	12↑
33-1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	38-4	64↑	50↓	4↑	4↑	18↑	31↓
34-1	(370)	77↓	38↓	2↑	7↑	11↓	38-5	15↑	37↑	8↓	4↑	19↓	4↓
35-1	28↓	44↓	7↓	0	5↓	6↓	39-1	31↓	36↓	9↓	4↑	6↓	3↓
35-2	25↑	22↓	2↑	2↑	25↓	11↓	39-2	41↑	48↓	46↓	3↑	10↑	23↓
35-3	14↑	4↓	16↑	7↓	26↑	0	39-3	60↑	16↓	7↑	1↑	16↑	1↑
36-1	7↓	14↓	0	0	7↓	6↓	39-4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
36-2	11↓	51↓	33↓	0	5↑	22↓	40-1	37↓	1↑	7↓	4↑	19↓	13↑
37-1	17↑	26↑	2↑	2↓	15↓	ND	40-2	57↑	76↓	23↓	3↓	8↑	13↓
37-2	ND	ND	ND	ND	ND	14↓	40-3	68↑	41↓	5↑	2↑	5↑	5↑
37-3	67↓	77↓	44↓	8↓	9↑	24↓	40-4	10↓	1↑	20↓	0	11↓	4↑
37-4	ND	ND	ND	0	10↓	9↓	40-5	28↑	7↑	5↓	0	22↑	9↓

Tabelle 3 Veränderung der Blutwerte im Rahmen der Apherese in Prozent

Bei der Apherese wurden die Leukozyten durchschnittlich um $31,63\% \pm 20,17\%$ abgesenkt, bzw. stiegen um $36,91\% \pm 21,62\%$ an. Der präoperative Abfall lag bei $29,88\% \pm 18,95\%$ und der präoperative Anstieg bei $33,00\% \pm 19,60\%$. Etwas stärker waren die postoperativen Absenkungen von $36,3\% \pm 27,02\%$ bzw. Anstiege von $39,14\% \pm 23,89\%$. Dies lässt sich auch aufgrund höherer Ausgangswerte postoperativ aufgrund des aktivierten Immunsystems und der Prednisolgabe erklären. Die hohen Standardabweichungen erklären sich durch die geringe Versuchszahl und die starken individuellen Unterschiede.

Sehr drastische Veränderungen zeigten sich bei den Thrombozyten mit einem durchschnittlichen Abfall von $45,06\% \pm 23,63\%$ und einem Anstieg von $14,4\% \pm 16,27\%$. Dabei lag die Absenkung präoperativ bei $50\% \pm 22,29\%$ gegenüber $27,71\% \pm 16,15\%$ postoperativ. Dies lässt sich auch durch geringere Ausgangswerte postoperativ erklären. Präoperativ kam es nur bei einer IA zu einem Anstieg von 26%, postoperativ stiegen die Plättchenzahlen jeweils einmal um 37% und 7% und zweimal nur unmerklich um 1%.

Bezüglich des Hämatokrit ergab sich eine durchschnittliche Absenkung von $23,19\% \pm 16,27\%$ und ein Anstieg von $6\% \pm 5,25\%$. Präoperativ ergab sich eine Absenkung von 28,5% und in einem Fall ein Anstieg um 2%. Postoperativ lag der durchschnittliche Abfall bei $17,3\% \pm 12,19\%$ und der Anstieg bei $6,67\% \pm 4,89\%$.

In keinem Fall mussten Blutprodukte oder Thrombozytenkonzentrate verabreicht werden.

Wesentlich geringeren Einfluss hatte die IA auf die Werte der Blutelektrolyte. Für Natrium war lediglich ein Abfall von $4,57\% \pm 2,99\%$ und ein Anstieg um $2,91\% \pm 1,14\%$ zu verzeichnen. Dabei sanken die Werte präoperativ um $4,17\% \pm 3,06\%$ und postoperativ nur in einem Fall um 7%. Der Anstieg lag bei $3,25\% \pm 0,96\%$ präoperativ und bei $2,7\% \pm 1,25\%$ postoperativ.

Die Kaliumwerte sanken durchschnittlich um $13,09\% \pm 7,26\%$ und stiegen um $12,83\% \pm 7,76\%$. Der präoperative Abfall lag dabei bei $12,3\% \pm 7,5\%$ im Vergleich zu einer postoperativen Absenkung von $9,57\% \pm 6,21\%$. Weiterhin kam es zu einem präoperativen Anstieg um $14,0\% \pm 7,94\%$ und einem postoperativen Anstieg von $17,4\% \pm 7,92\%$.

Die mittlere Absenkung von Calcium lag bei $14,47\% \pm 9,40\%$, der mittlere Anstieg bei $7,3\% \pm 4,76\%$. Präoperativ sanken die Werte um $15,3\% \pm 9,29\%$ und stiegen einmal um 13%. Es ergab sich eine postoperative Absenkung von $12,8\% \pm 10,5\%$ und ein Anstieg von $5,5\% \pm 4,65\%$.

Es musste weder Kalium noch Calcium substituiert werden.

III.8. Absenkung der Antikörper

PAV	Zyklen	IgG	IgM	APA	PAV	Zyklen	IgG	IgM	APA
31-1	25	69	50	ND	38-1	17	64	33	ND
32-1	22	66	75	80	38-2	17	77	66	ND
32-2	35	77	ND	99	38-3	12	54	40	ND
33-1	25	50	33	80	38-4	12	78	40	ND
34-1	25	50	33	52	38-5	15	ND	ND	ND
35-1	15	77	75	ND	39-1	20	79	20	ND
35-2	13	43	66	ND	39-2	16	79	50	99
35-3	13	12	ND	ND	39-3	15	72	33	ND
36-1	13	80	50	89	39-4	18	80	ND	97
36-2	13	50	33	ND	40-1	22	ND	ND	ND
37-1	22	80	75	ND	40-2	16	65	25	60
37-2	26	ND	ND	ND	40-3	21	82	50	ND
37-3	ND	80	33	ND	40-4	18	76	40	ND
37-4	15	75	60	57	40-5	18	83	75	ND

Tabelle 4 Übersicht über die prozentuale Absenkung von IgG, IgM und APA durch die IA

Es muss vorab angemerkt werden, dass bei Pav 34 und bei Pav 35 bei Apherese zwei und drei die Messung der Werte nach Behandlung erst nach der Applikation von intravenösen Immunglobulinen erfolgte. Somit kann die eigentlich erreichte Absenkung der Antikörper als höher angenommen werden. Mit durchschnittlich $67,92\% \pm 16,67\%$ konnten die IgG-Titer in $18,48 \pm 5,45$ Zyklen insgesamt effizient gesenkt werden. Da zwar schon präoperativ mit der medikamentösen Immunsuppression begonnen wurde, diese aber postoperativ stark intensiviert wurde, lohnt sich ein Vergleich zwischen den präoperativen und postoperativen

Behandlungen. Im Mittel wurden die IgG-Antikörperspiegel präoperativ um $69,0 \% \pm 11,85 \%$ abgesenkt, postoperativ um $66,55 \% \pm 21,92 \%$. Die Ausgangstiter und die durchschnittlich durchgeführte Zyklenzahl waren mit 6,6 g/l bzw. $19,6 \pm 4,78$ Zyklen nahezu identisch, der Endwert lag bei den präoperativen Behandlungen im Durchschnitt bei 1,79 g/l, bei den postoperativen bei 1,6 g/l.

Beim Parameter IgM ließ sich im Mittel eine Absenkung von $47,95 \% \pm 17,69 \%$ bei einem durchschnittlichen Ausgangstiter von 0,41 g/l erreichen, wobei hier eine relativ hohe Standardabweichung vorliegt und somit durchaus höhere Absenkungen erzielt werden konnten. Der durchschnittliche Spiegel nach Behandlung lag bei $0,19 \text{ g/l} \pm 0,09 \text{ g/l}$. Betrachtet man nun wieder prä- und postoperative Behandlungen getrennt, so ergibt sich für die präoperativen Behandlungen eine durchschnittliche Absenkung um $46,5 \% \pm 19,47 \%$ mit einem Ausgangswert von 0,4 g/l und einem Endwert von 0,18 g/l. Bei den postoperativen Apheresen lag die durchschnittliche Absenkung bei $50,5 \% \pm 14,97$ mit einem Ausgangswert 0,44 g/l von und einem Endwert von 0,21 g/l.

Die APA konnten durchschnittlich um $79,2 \% \pm 18,71 \%$ gesenkt werden. Bei den präoperativen Behandlungen wurde eine Absenkung von $76,7 \% \pm 17,66 \%$ erreicht, bei den postoperativen sank APA um $84,3 \% \pm 23,69 \%$.

III.9. Postoperative Verläufe der Antikörperspiegel

Neben IgG und IgM wurden postoperativ auch Anti-Schwein-Antikörper (APA) beobachtet. Dabei wurden APA mittels ELISA als auch Hämagglutinationstest ermittelt. Es wurde versucht, die Werte mittels Immunsuppression und Apherese auf Werte unter 1:64 zu halten. Nach Apherese erfolgte in der Regel eine Gabe von 5000 bis 10000 IE intravenöser Immunglobuline, wodurch sich nach Apherese ein rascher Anstieg der Antikörperspiegel ergibt. Da aufgrund der geringen Versuchstierzahl die postoperativen Verläufe dieser Parameter sehr unterschiedlich ausfielen, sollen sie im folgenden mittels Graphen für jedes Tier gesondert dargestellt werden. Da Pavian 36 unmittelbar postoperativ verstarb, ergeben sich keine Verlaufsparemeter.

Postoperativer Verlauf der IgG- und IgM-Spiegel bei Pav 31 – 40

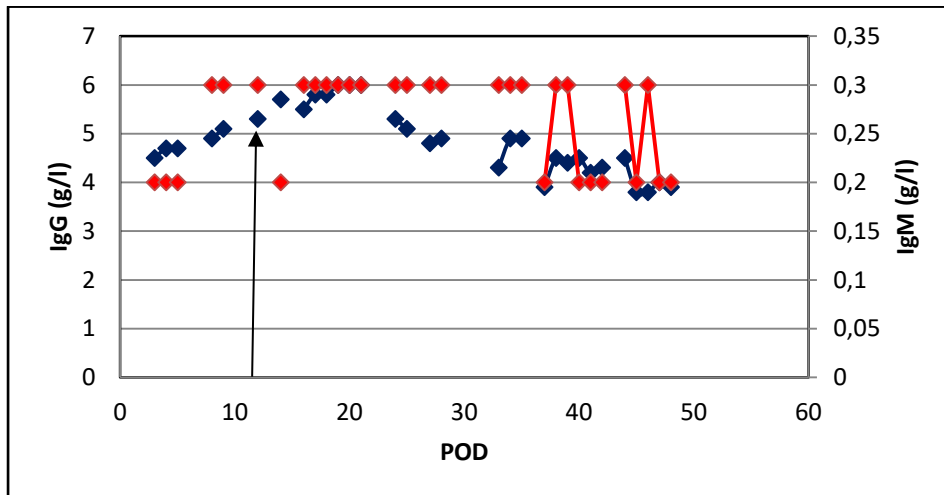


Abb. 7 postoperativer Verlauf von IgG und IgM bei Pav 32 ↑ = IA-Zeitpunkt

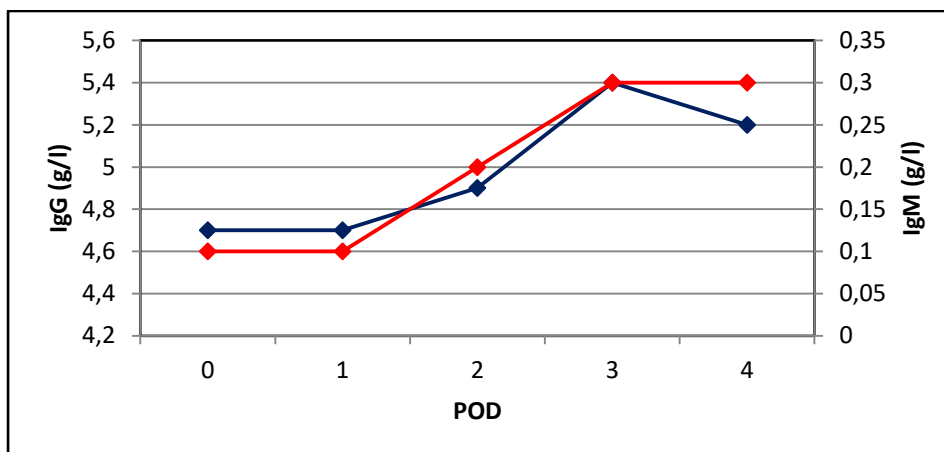


Abb. 8 postoperativer Verlauf von IgG und IgM bei Pav 33

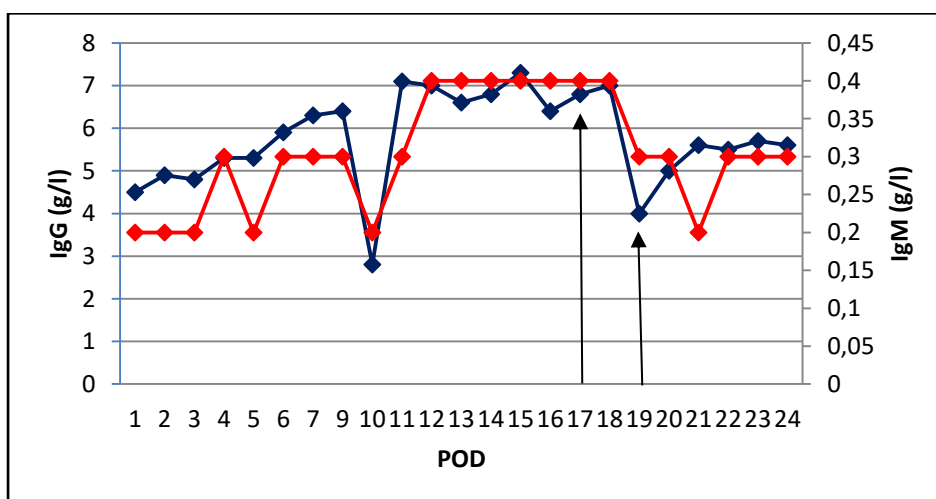


Abb. 9 postoperativer Verlauf von IgG und IgM bei Pav 35 ↑ = IA-Zeitpunkt

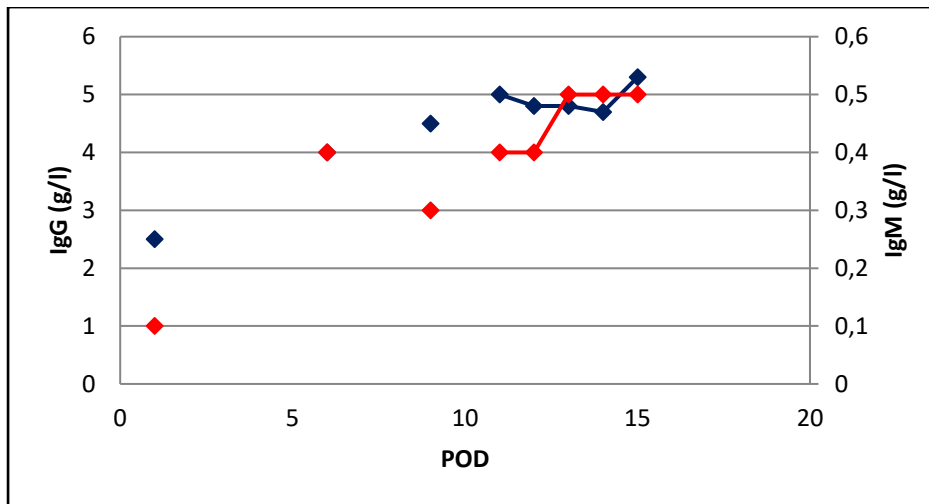


Abb. 10 postoperativer Verlauf von IgG und IgM bei Pav 36

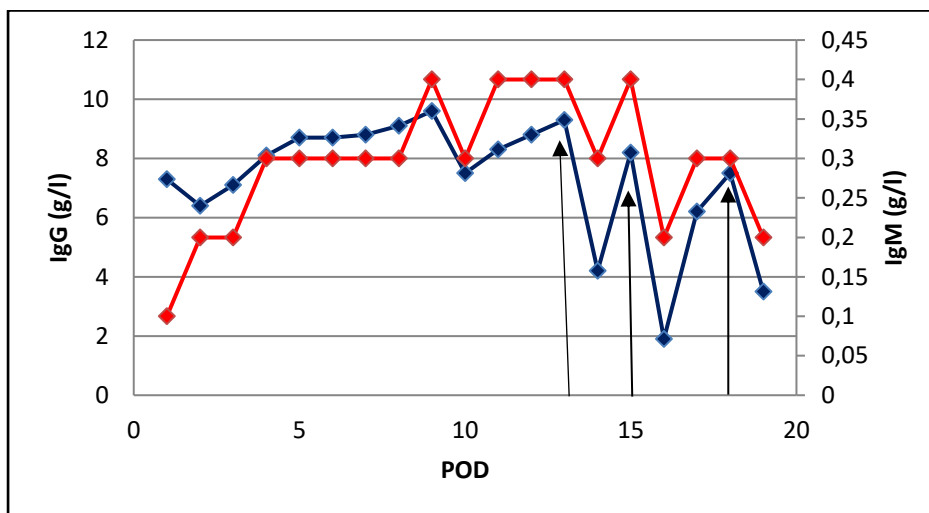


Abb. 11 postoperativer Verlauf von IgG und IgM bei Pav 38 ↑ = IA-Zeitpunkt

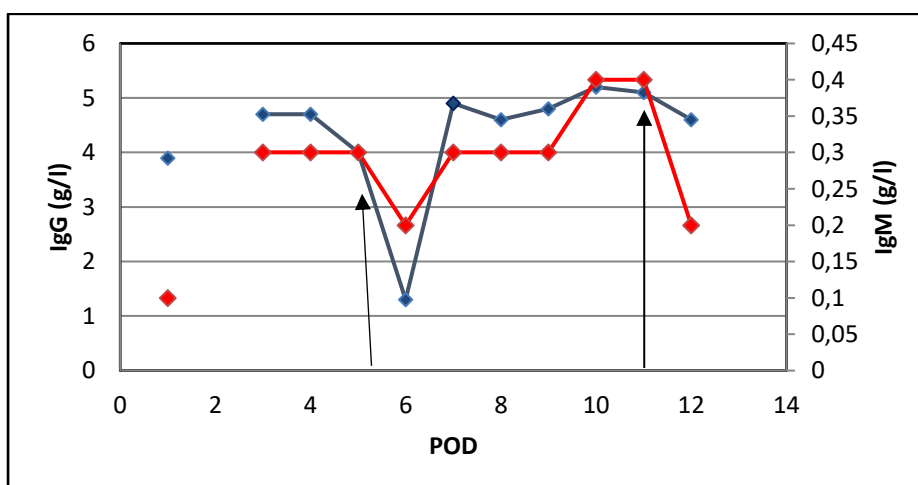


Abb. 12 postoperativer Verlauf von IgG und IgM bei Pav 39 ↑ = IA-Zeitpunkt

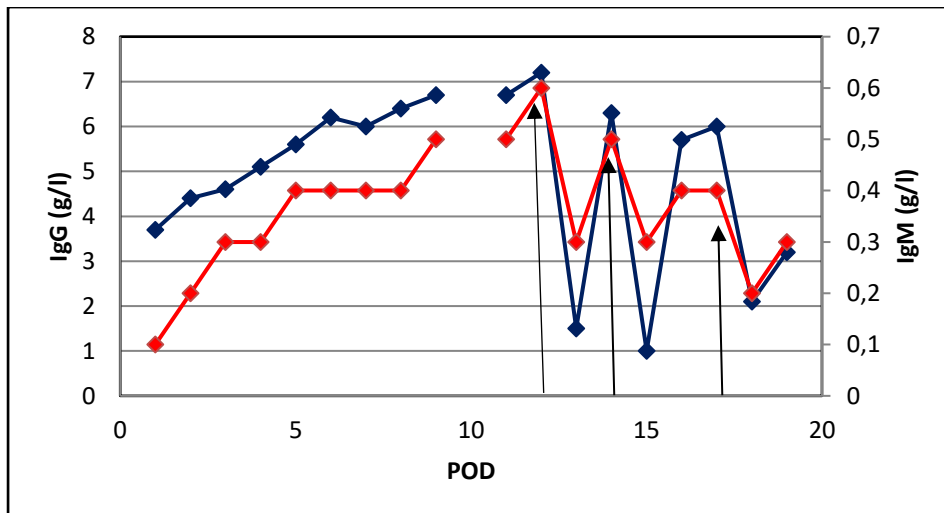


Abb. 13 postoperativer Verlauf von IgG und IgM bei Pav 40 ↑ = IA-Zeitpunkt

Postoperativer Verlauf der APA-Spiegel im ELISA-Essay bzw. Hämagglutinationstest

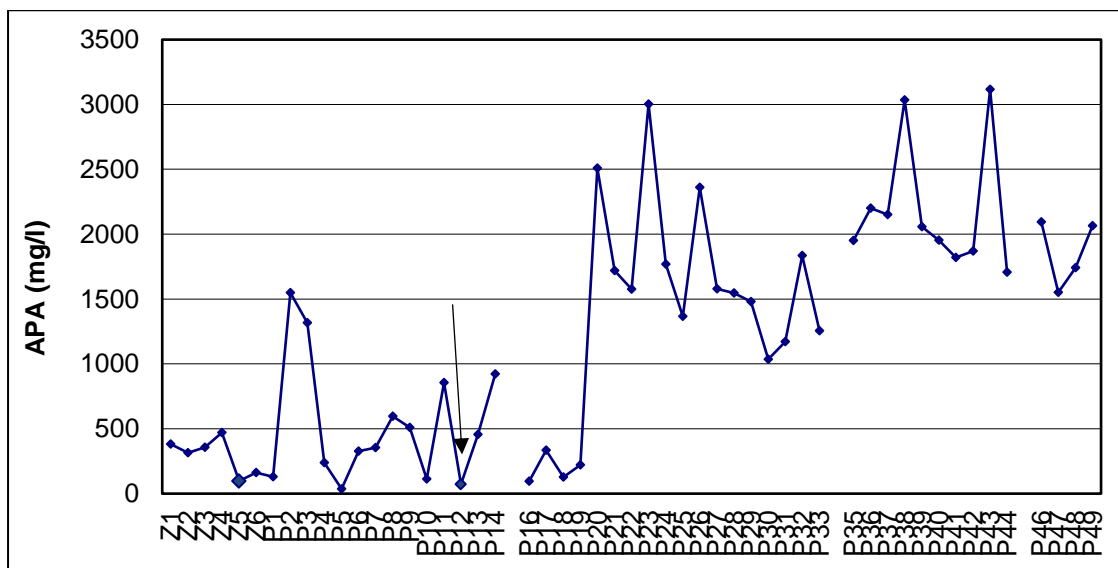


Abb. 14 postoperativer Verlauf von APA bei Pav 32 ↑ = IA-Zeitpunkt

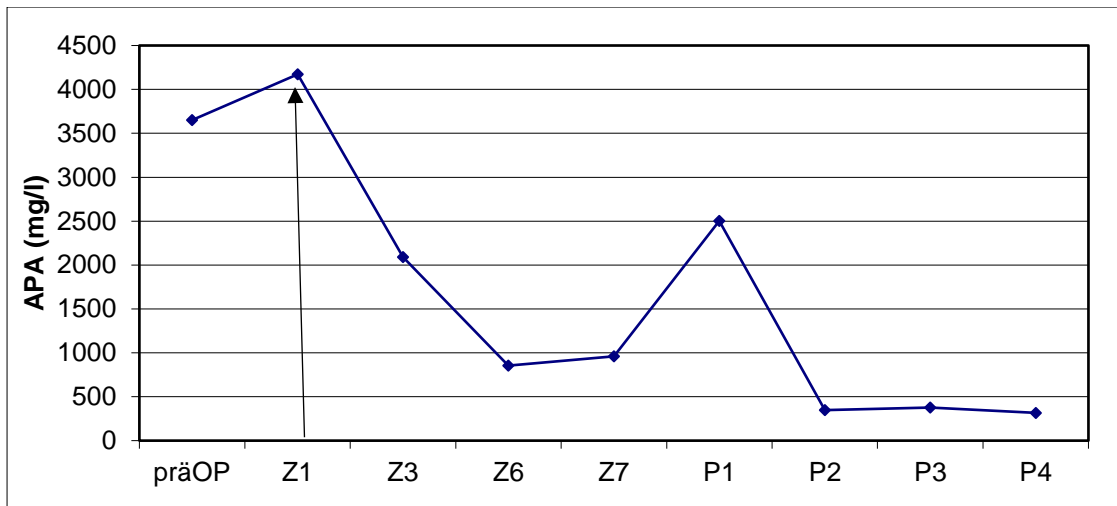


Abb. 15 postoperativer Verlauf von APA im ELISA bei Pav 33 ↑ = IA-Zeitpunkt, Z1-Z7 = IA und OP

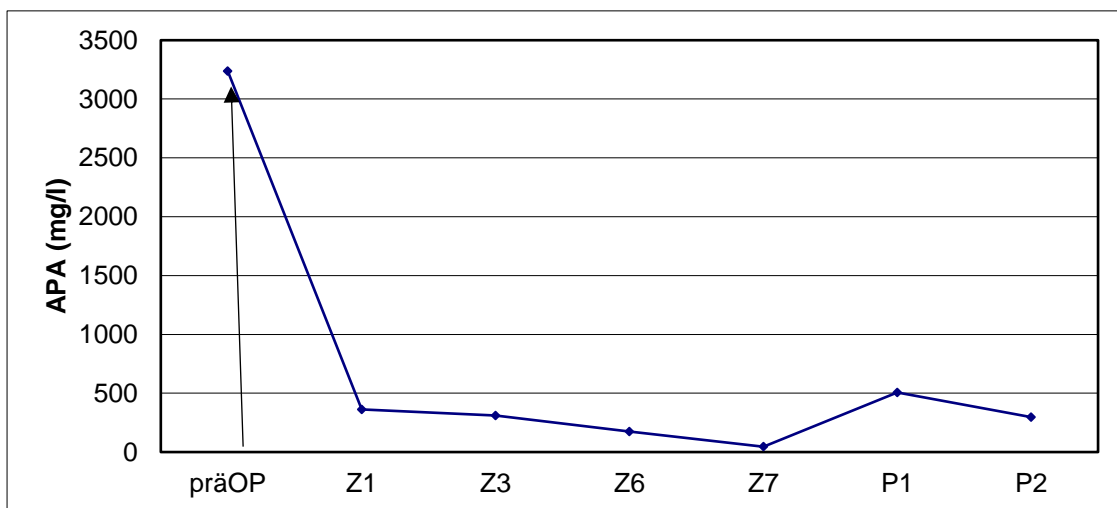


Abb. 16 postoperativer Verlauf von APA im ELISA bei Pav 34 ↑ = IA-Zeitpunkt, Z1-Z7 = Apherese und OP

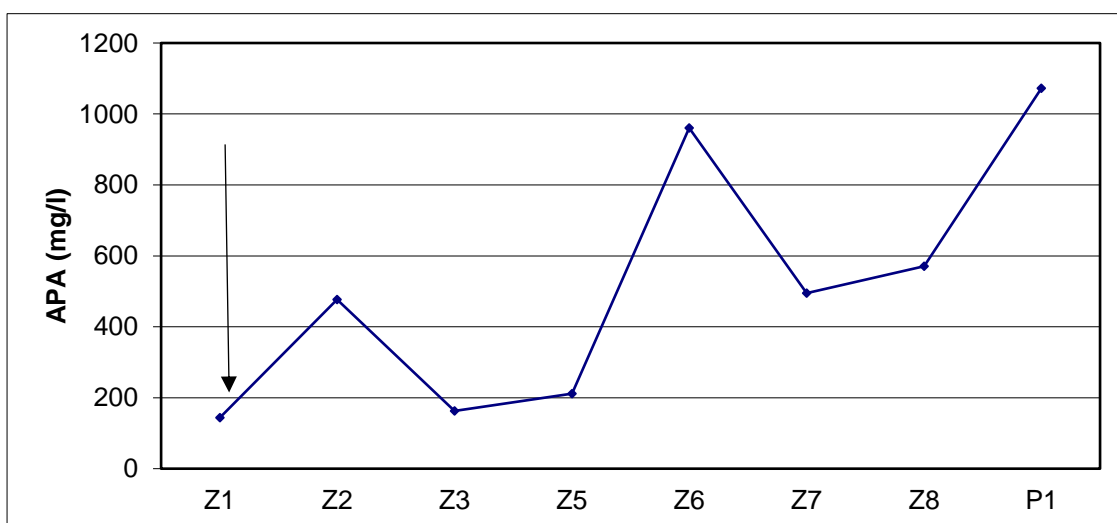


Abb. 17 postoperativer Verlauf von APA im ELISA bei Pav36 ↑ = IA-Zeitpunkt, Z1-Z7 = Apherese und OP

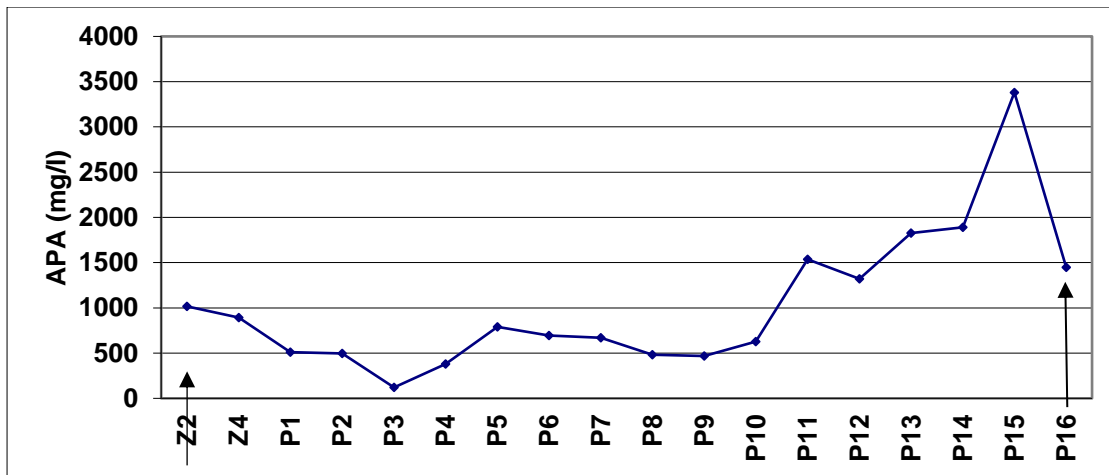


Abb. 18 postoperativer Verlauf von APA im ELISA bei Pav 37 ↑ = IA-Zeitpunkt, Z2-Z4 = Apherese und OP

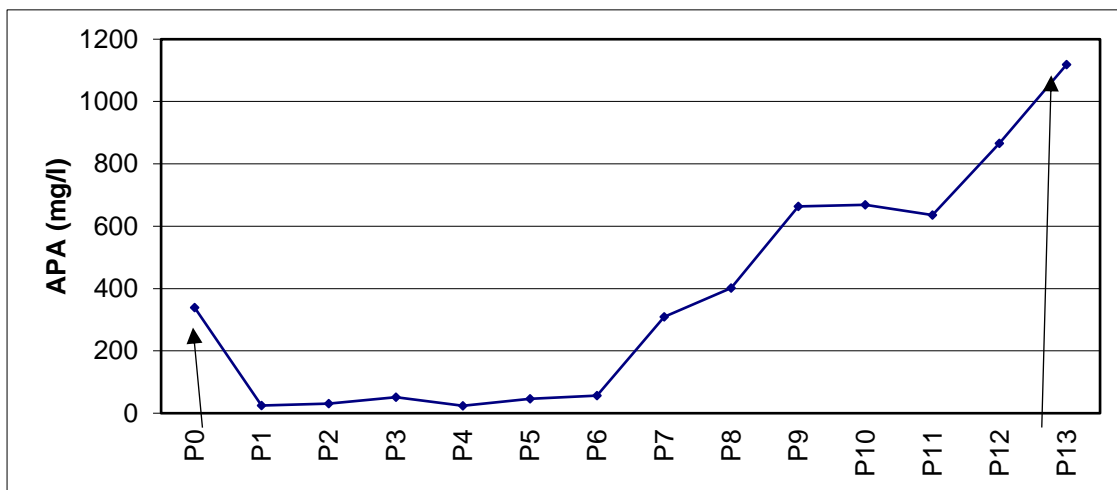


Abb. 19 postoperativer Verlauf von APA im Elisa bei Pav 38 ↑ = IA-Zeitpunkt

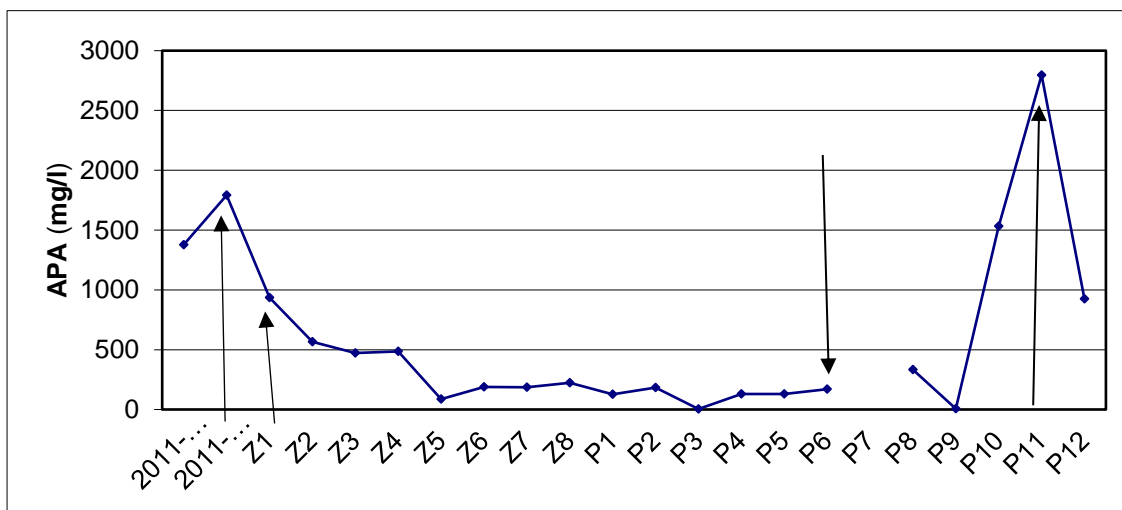


Abb. 20 postoperativer Verlauf von APA im ELISA bei Pav 39 ↑ = IA-Zeitpunkt, Z1-Z8 = Apherese und OP

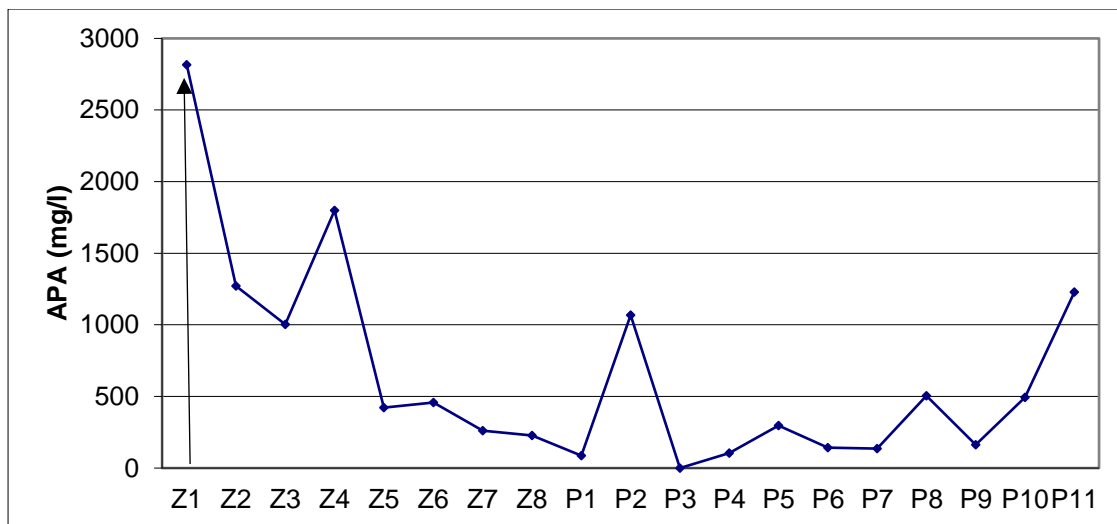


Abb. 21 postoperativer Verlauf von APA im Elisa bei Pav 40 ↑ = IA-Zeitpunkt, Z1-Z8 = Apherese und OP

III.10. Medikamentöse immunsuppressive Therapie von Pavian 31 bis 40

Die immunsuppressive Basistherapie bestand aus Prednisolon, Tacrolimus und MMF. Von einer Anfangsdosis von 250 mg Prednisolon wurde die Dosis bei Pav 32 bis zum 6. POD stufenweise auf 8 mg Erhaltungsdosis herabgesenkt und dann bei ansteigenden Herzenzymen auf 250 mg Rescue-Dosis erhöht. Hier war das zwischen dem 11. und 14. POD und ab dem 45. POD der Fall. Parallel wurde Tacrolimus von anfangs 0,25 mg über 24 Stunden auf 0,75 mg über 24 Stunden bei ansteigenden Herzenzymen erhöht. MMF wurde ab dem 11. POD von 1000 mg/d auf 1500 mg/d erhöht. Aufgrund ansteigender Nierenretentionswerte wurde MMF zwischen dem 32. und 35. POD pausiert und anschließend wieder stufenweise bis auf 1500 mg erhöht. Am 6. und 11. POD wurden 500 mg Rituximab verabreicht, am 19. und 25. POD jeweils 400 mg. 0,75 mg Bortezomib wurden am 14., 17., 21. und 23. POD verabreicht. Zur Rescue-Therapie wurde ATG zwischen dem 12. und 16. POD in einer Dosierung von 33 mg verabreicht.

Die medikamentöse Immunsuppression bestand bei Pav 33 aus Prednisolon, das nach OP von 250 mg bis POD 3 auf 58 mg abgesenkt wurde, des Weiteren aus 0,18 mg/24h Tacrolimus und 1000 mg/d MMF. Am 1. POD erhielt der Pavian 350 mg Rituximab.

Pav 34 erhielt nur eine Tagesdosis der Immunsuppressiva. Diese bestand aus 180 mg Prednisolon, 0,26 mg Tacrolimus und 1500 mg MMF.

Bei der medikamentösen immunsuppressiven Therapie von Pav 35 wurde Prednisolon postoperativ von 120 mg auf eine Erhaltungsdosis von 6 mg täglich gesenkt und erst wieder bei ansteigenden Herzenzymen an POD 18 auf 254 mg gesteigert. Tacrolimus wurde spiegelabhängig angepasst von anfangs 0,36 mg auf 2 mg täglich. MMF wurde entsprechend der Nierenretentionswerte in Dosen zwischen 1750 mg und 3000 mg verabreicht. 350 mg Rituximab wurden an POD 5, 11, 18 und 19 gegeben, 100 mg FcγRIIIb an POD 4, 7, 9, 16 und 18. Zusätzlich wurde an POD 3, 4, 6, 18 und 19 30 mg ATG gegeben.

Folgendes Therapieschema galt für die medikamentöse Immunsuppression von Pav 37: Prednisolon wurde von anfangs 250 mg/d bis POD 11 auf eine Erhaltungsdosis von 7,2 mg/d gesenkt. Tacrolimus wurde spiegelabhängig mit einer Tagesdosis von 1 bis 2 mg verabreicht, MMF lag anfangs bei 2000 mg täglich, wurde aber ab POD 9 auf 1000 mg heruntergesetzt. Zudem erhielt Pav 37 an POD 1-4 und 10-12 zur Rescue Therapie 36 mg ATG über 24 Stunden.

Es kam bei Pav 38 um POD 11 zu einem Anstieg der Herzenzyme, der aber mit einer Erhöhung der medikamentösen Immunsuppression und mittels Apherese wieder abgesenkt werden konnte. Prednisolon wurde von der Erhaltungsdosis von 7,5 mg auf 250 mg gesteigert, zudem erhielt das Tier in den folgenden 4 Tagen 40 mg ATG. Tacrolimus wurde nicht angehoben und weiterhin bei einer Tagesdosis zwischen 0,3 mg und 0,45 mg erhalten. Ebenso wurde MMF weiterhin in Dosen von 500 mg bis 1000 mg verabreicht. Zudem wurde an POD 5 und 11 jeweils 500 mg Rituximab verabreicht.

Bezüglich der medikamentösen Immunsuppressiva bei Pav 39 wurde Prednisolon von der Anfangsdosis von 250 mg/d bis POD 12 auf 4,4 mg/d ausgeschlichen, Tacrolimus wurde von anfangs 1,12 mg/d auf 0,64 mg/d gesenkt. MMF wurde postoperativ in Dosen von anfangs 2500 mg/d auf 1500 mg/d bzw. 1000 mg/d gesenkt. Zusätzlich erhielt das Tier an POD 6 500mg Rituximab und an POD 7 0,81 mg Bortezomib. ATG wurde in einer Dosis von 40 mg/d von POD 2-4 und POD 7-12 gegeben.

Die medikamentöse Immunsuppression von Pav 40 bestand zum einen aus Prednisolon, das von anfangs 250 mg/d bis POD 9 auf 8 mg/d gesenkt wurde. Ab POD 12 wurden wieder 270 mg verabreicht, die in den folgenden Tagen langsam ausgeschlichen wurden. Parallel dazu wurde Tacrolimus von anfangs 0,27 mg/d auf 2mg/d gesteigert. MMF wurde in Dosen zwischen 1000 mg/d und 2225 mg/d verabreicht, angepasst an die Spiegel für Herzenzyme und die Nierenretentionswerte. Zusätzlich dazu wurde von POD1 bis POD 15 40 mg/d ATG

verabreicht, außerdem 500 mg Rituximab an POD 7 und 14 . An POD 6 und 15 wurden 0,81 mg Bortezomib gegeben, an POD 12 0,54 mg und POD 14 0,27 mg.

III.11. Verlauf der Herzenzyme und histologische Befunde der Paviane 31 bis 40

In der Herzechokardiographie fand sich bei Pav 32 bereits an POD 11 eine deutliche globale Wandverdickung des Spenderherzens bei mäßiger Füllung und mäßiger Kontraktilität. Dieser Befund besserte sich zunächst, am 14.POD ergab sich dann aber wieder das Bild einer deutlichen Hypertrophie des linken Ventrikels und eine eingeschränkte Pumpfunktion des rechten Ventrikels. Dieser Befund verlief dann progredient. Das Eigenherz war im gesamten Verlauf ohne pathologischen Befund, wurde aber durch die Hypertrophie des Spenderherzens mechanisch eingeengt und zeigte durch die mangelnde Funktion des Spenderherzens Kompensationsmechanismen in Form einer gesteigerten Herzfrequenz bis zu 140 bpm.

Parallel dazu stiegen Troponin und LDH im postoperativen Verlauf kaum an, es kam allerdings zu einem stetigen Anstieg von LDH und der gesamt CK. Die Werte betrugen zuletzt 5000 U/l fuer LDH und 4000 IE für CK. Ausserdem kam es zu CK Spitzen von 500 U/l an POD 12, 1600 U/l an POD 28 und 5000 U/l an POD 45. LDH betrug dabei 1200 U/l and POD 28 und 4800 U/l an POD 45.

Nach 50 postoperativen Tagen wurde Pavian 32 aufgrund von Transplantatversagen euthanasiert und seziert. Das Spenderherz zeigte sich dabei stark hypertrophiert mit einem Herzgewicht von 230 g im Vergleich zu 118 g Ausgangsherzgewicht. Bei starker Hypertrophie des linken Ventrikels bestand eine ausgiebige Aortenklappeninsuffizienz. Zudem fanden sich im Versorgungsgebiet des Ramus circumflexus Infarktnarben. Das Eigenherz war ohne pathologischen Befund bei einem Herzgewicht von 97g.

Trotz der immunsuppressiven Behandlung stiegen postoperativ bei Pav 33 die Werte der Herzenzyme drastisch an. Die CK erreichte dabei zuletzt Werte von 88447 U/l, die CK-Massenkonzentration betrug dabei 16,4 ng/ml, LDH 13500 U/l und Troponin 77,5 ng/ml.

Pav 33 erlitt an 4. POD einen plötzlichen Herz- und Atemstillstand und konnte trotz der Reanimationsversuche nicht wiederbelebt werden. Bei der Sektion stellten sich sowohl das Spender-, als auch das Eigenherz ohne pathologischen Befund dar, allerdings fanden sich massive globale Flüssigkeitsansammlungen. In der linken Thoraxhälfte fanden sich 120 ml

blutige, in der rechten Thoraxhälfte 120 ml seröse Flüssigkeit. Anzeichen einer Transplantatabstoßung ergaben sich nicht. Weitere Befunde ergaben sich für Leber und Niere und werden zusammenhängend mit den pathologischen Befunden bei Pavian 34 näher erläutert (s.u.).

Pav 34 geriet an POD 2 in zunehmende Bradykardie bis hin zur Asystolie. Reanimationsversuche verliefen nach zwischenzeitlicher Wiedergewinnung der Herztätigkeit letztendlich aber erfolglos. Die Sektion ergab keine pathologischen Befunde für das Spender- und Empfängerherz. Es fanden sich allerdings im Thorax rechts 400 ml und links 300 ml seröse Flüssigkeit. Außerdem fanden sich Anzeichen einer geringgradigen Leberstauung.

Pavian 33 und 34 zeigten beide laut Pathologiebericht hochgradige, akute, zentrolobuläre Leberzellveränderungen und renal hochgradige akute Tubulusepithelzelluntergänge. Somit schloss man auf ein hypoxisch-ischämisches Geschehen.

Bei Pav 35 fielen die Herzenzyme postoperativ auf Werte leicht über null und stiegen erst ab POD 20 wieder an. CK und LDH stiegen dabei auf etwa 1000 U/l an, Troponin auf 8 ng/ml und CK-MB-Masse auf 59 U/l. Bei der Herzultraschalluntersuchung von Pav 35 zeigte sich an POD 7 eine mäßige Füllung beider Herzen bei guter Auswurfleistung und keinen Anzeichen von Hypertrophie. An POD 12 war bereits bei sonst gleichem Befund eine schwächere Kontraktion des Spenderherzens erkennbar, an POD 19 zeigte sich bei starker Hypertrophie des Spenderherzens keine Kontraktion desselben mehr. Es erfolgte im Anschluss wegen des Verdachts der Transplantatabstoßung bei außerdem massiv erhöhten Herzenzymen eine Immunapherese. An POD 24 war das Spenderherz bei starker Lumeneinengung immer noch hochgradig hypertrophiert und zeigte keine Kontraktionen. Im CT zeigten sich fronto-temporale Hirninfarkte beidseits. Das Spendermyokard war nicht darstellbar, es konnte aber nachgewiesen werden, dass keine Koronarperfusion mehr bestand. Das Eigenherz war ohne pathologischen Befund. Das Tier wurde im Anschluss an die Untersuchungen euthanasiert.

Pathologisch zeigten sich neben der starken Hypertrophie des Spenderherzens Nekrosen der Vorder- und Hinterwand, sowie des Septums und thrombotische Ablagerungen im rechten Vorhof. Als Todesursache vermutete man einen frischen hochparietalen Hirninfarkt mit einer Größe von 2 cm x 1 cm.

Die Herzenzyme zeigten sich bei Pav 37 im Verlauf unauffällig, es kam lediglich bei Troponin und CK-MB-Masse ab POD 15 zu Anstieg auf 5 ng/ml für Troponin und 10 U/l für CK-MB-Masse. Im Herzultraschall an POD 11 zeigte sich das Spenderherz von Pav 37 relativ leer bei

jedoch guter Pumpfunktion, das Eigenherz war ohne pathologischen Befund. An POD 15 starb das Tier.

Bei der Sektion wurde eine globale Hypertrophie des Spenderherzens mit Einblutungen, auch im Übergangsbereich der Aorta festgestellt. Jedoch ergab sich kein Anhalt für eine zelluläre oder humorale Abstoßung. Auch das Eigenherz stellte sich global hypertrophiert dar, mit einer starken rechtsventrikulären Trabekulisierung. Außerdem bestand ein Pleuraerguss mit 0,5 l Volumen. Die Leber zeigte Zeichen der Stauung und der Autolyse. Als Todesursache jedoch ist vermutlich das frontotemporale Hirnödem anzusehen.

Am POD 16 stellte sich das Spenderherz bei Pav 38 in der Echographie deutlich hypertroph, bei massiv eingengtem linken Ventrikel und mäßiger Pumpfunktion dar. Der rechte Ventrikel stellte sich gut perfundiert bei guter Pumpfunktion dar. An POD 18 wurde das Tier euthanasiert. Zu einem Anstieg der Herzenzyme kam es ab POD 14. Dabei stiegen CK-MB-Masse an POD 16 auf 60 U/l, Troponin auf 38 ng/ml, CK an POD 17 auf 2000 U/l und LDH an POD 18 auf etwa 3000 U/l. Anschließend fielen diese Werte wieder leicht ab.

Bei Pav 39 verliefen die spezifischen Herzmarker Troponin und CK-MB-Masse unauffällig, allerdings kam es bei der Gesamt-CK an POD 12 zu einem Anstieg auf 12000 U/l und auf 10000 U/l fuer LDH. An POD 11 zeigte sich im Herzultraschall das Septum des Spenderherzens verdickt mit 1,3 cm. Außerdem bestand links ein Pleuraerguss von ca. 400 ml. An POD 12 trat ein plötzlicher Bluthusten auf, dem ein Herzstillstand folgte. Reanimationsversuche blieben erfolglos. Bei der Sektion zeigte sich das Spenderherz mit einer mäßigen Myokardhypertrophie und vereinzelten Nekrosen. Für eine humorale oder zelluläre Abstoßung fanden sich keine Anhaltspunkte. Das Eigenherz war bis auf disseminierte Einzelfasernekrosen im linken Ventrikel ohne pathologischen Befund. Als Todesursache wurde ein Rechtsherzversagen angenommen.

Ein deutlicher Anstieg ergab sich ebi Pav 40 erst gegen Ende der Behandlung. So betrugen die zuletzt gemessenen Werte für CK 1500 U/l, für CK-MB-Masse 139 U/l, für LDH 3105 U/l und für Troponin 64 ng/ml. Ein histopathologischer Befund ist für Pav 40 nicht dokumentiert.

IV.DISKUSSION

IV.1. Vergleich zwischen alpha-Gal- und non-Gal-Antikörpern und ihre Rolle bezüglich der Xenograft-Abstoßung

Um Abstoßungsvorgänge jeglicher Art zu unterbinden, ist es essentiell, die induzierten xenogenen Antikörper und ihre Wirkungsmechanismen zu kennen. 85% der xenogenen Antikörper sind alpha-Gal-Antikörper (18, 33, 41, 43), die an die entsprechenden alpha-Gal-Epitope porciner Zellen binden (19, 21, 29, 30). Schon bevor der Organismus von Menschen bzw. Altweltaffen mit dem artfremden Organ konfrontiert wird, bestehen präformierte alphaGal-Antikörper, hauptsächlich vom IgM-Typ (55, 59). Diese werden in den ersten 3 Lebensmonaten gebildet und steigen anschließend stetig an (57). Zusätzlich steigen die Spiegel der alpha-Gal IgG nach Transplantation schnell an (31), obwohl der Prozentsatz der anti-Gal-produzierenden B-Zellklone an allen im Blut zirkulierenden B-Zellen nur ein Prozent beträgt (28). Aufgrund der hohen Ausgangsspiegel an Antikörpern und des starken postoperativen Anstiegs kommt es ohne Intervention zu einer hyperakuten Abstoßungsreaktion des Organs. Es bestehen verschiedene Ansätze, die Interaktion dieser alpha-Gal-Antikörper mit den entsprechenden Antigenen am Xenotransplantat zu unterbinden. Ein Ansatz sind injizierbare Kohlenhydratpolymere, wie GAS914 oder NEX1215, die mit den antiGal-AK im Empfängerserum interagieren und somit deren Bindung an alpha-Gal-Epitope limitieren (7, 47, 71). Einen durchschlagenden Erfolg erbrachte die Anwendung von Organen transgen manipulierter Spendertiere (39, 54). Diese Organe (GTKO) präsentieren keine alphaGal-Epitope, womit die Bindung von Antikörper und die Aktivierung der Komplementkaskade inhibiert werden kann (44, 52, 73). In etlichen Studien konnte so eine HAR abgewendet werden, jedoch kommt es ohne weitere immunsuppressive Behandlung innerhalb weniger Tage bis Monate zu einer AVR (16, 17, 24). Die dafür verantwortlichen Antikörpern binden mit anderen Epitopen und werden unter dem Begriff non-Gal-Antikörper zusammengefasst. Anders als bei den alpha-Gal-Antikörpern sind die Serumspiegel der nonGal-Antikörper vor der Xenotransplantation nur sehr niedrig (38). Da für die Induktion einer Abstoßungsreaktion ein Mindestserumspiegel vorliegen muss, erfolgt die Abstoßung nicht unmittelbar (51). In einer Studie an Patienten, bei denen ein gerissenes vorderes Kreuzband durch ein GTKO-Xenoligament ersetzt wurde, konnte innerhalb von zwei Wochen eine Immunantwort durch

nonGal-AK festgestellt werden (66). Dazu muss angemerkt werden, dass die präexistierenden nonGal-AK mittels Adsorption mit RBC aus dem menschlichen Serum entfernt wurden. Kennzeichnend für eine akute xenogene humorale Abstoßung durch non-Gal-AK ist die thrombotische Mikroangiopathie (16, 35, 45, 47, 64, 72), hervorgerufen durch EC-Aktivierung und Dysregulation der Gerinnungskaskade. Versuche, die Entstehung der thrombotischen Mikroangiopathie mittels Antikoagulantien positiv zu beeinflussen, scheiterten (60). Ausschlaggebend ist die Aktivierung der EC-Zellen durch non-Gal-AK. Dabei ist bis dato nicht ausreichend geklärt, an welche Antigene non-Gal-AK binden. Fest steht, dass nonGal-AK eine Vielzahl der auf den Schweineendothelzellen präsentierten Proteine binden. Zu den möglichen nonGal-Antigenen gehören das Hanganutziu-Deicher Antigen, ein anti-Neu5Gc-Antigen (49, 53, 58). Galili et al. vermuten sogar, dass die meisten Schweineproteine nonGal-Antigene darstellen können, da nur wenige Unterschiede in der Aminosäuresequenz nötig sind (31). Diese Bindung scheint sehr spezifisch zu sein, es kommen also keine Kreuzreaktionen mit homologen menschlichen Oberflächenmolekülen vor, wodurch Autoimmunreaktionen ausgeschlossen werden können. Zusätzlich scheinen bestimmte Oberflächenmoleküle, die mit non-Gal-Antikörpern binden, organspezifisch zu sein. Aufgrund des breiten Spektrums an non-Gal-AK muss zur Unterdrückung bzw. Verzögerung der AVR eine möglichst allumfassende Methode der Immunsuppression gefunden werden. Dabei ist die Immunadsorption besonders vielversprechend.

IV.2. Möglichkeiten der Immunadsorption

Es bestehen verschiedene Ansätze, die xenogenen Antikörper aus dem Empfängerorganismus zu entfernen. Eine bereits sehr früh praktizierte Methode ist die Organperfusion. Dabei wird das Empfängerblut über einen extrakorporalen Kreislauf durch ein artfremdes Organ geleitet. Als am effizientesten erwiesen sich dabei Schweineleber und -Lunge (5, 46, 48). Nachteil dieser Methode ist vor allem die Praktikabilität, sowie ein hoher Verlust von Patientenblutvolumen und die Aktivierung der Komplement- und Gerinnungskaskade (37).

Der Plasmaaustausch wurde erfolgreich von Alexandre et al. zur Entfernung von AB0-Antikörpern bei der AB0-inkompatiblen Nierentransplantation eingesetzt (1). Nach der Entfernung des A- bzw. B-Antikörper konnte eine Anpassung des Empfängerorganismus an das transplantierte Organ beobachtet werden. Diese Anpassung ließ sich aber nicht auf die xenogene Organtransplantation übertragen (1).

Eine weitere Methode ist die unspezifische Antikörperadsorption mittels Staphylokokken-Protein A Säulen, bei denen Protein A die Fc-Region der Antikörper bindet. Diese Methode ist jedoch, wie schon erwähnt, unspezifisch und resultiert in einer Elimination aller Antikörper mit daraus folgender Hypogammaglobulinämie und erhöhtem Infektionsrisiko (4).

Immunoaffine Melibiose-Säulen konnten erfolgreich alpha-Gal-AK für 4-5 Tage aus dem Empfängerserum eliminieren, ohne dass eine Hypogammaglobulinämie auftrat (74). Da alpha-Gal anschließend aber wieder anstieg und zur Abstoßung führte, ist die Verwendung von GTKO-Organen sicherlich der alpha-Gal spezifischen Immunadsorption überlegen.

Karoor et al. testete 2001 alpha-Gal-spezifische Nylon- und Polysulfon-Mikrofiltrationsmembranen, sowie modifizierte Dialysesysteme zur Immunadsorption (37). Während die Effizienz Dialysesysteme vom Plasmafluss abhängig war, erwiesen sich die Mikrofiltrationsmembranen als praktikabler.

Kotzłowski et al. verglichen die Effizienz einer alphaGal-spezifischen Hämo-perfusion mit der einer ebenfalls alphaGal-spezifischen Plasmaperfusion. Diese wurden im Rahmen einer xenogenen Nierentransplantation von Schwein auf Pavian in 13 Pavianen eingesetzt. Dabei erwiesen sich beide Verfahren als gleichermaßen effektiv, wobei sich die Plasmaperfusion aufgrund des geringeren Einsatzes von Blutprodukten und der einfacheren Handhabung als bevorzugte Methode herausstellte (42).

Ig-Therasorb Säulen filtrieren mehr als nur alpha-Gal-AK. Mit ihnen können Antikörper aller Klassen, sowie Immunkomplexe und Immunglobulinfragmente spezifisch aus dem Empfängerserum entfernt werden (40). Dabei bleiben andere Plasmaproteine und Gerinnungsfaktoren im Patientenserum erhalten (68, 69). Diese Säulen konnten bereits Erfolge in der Behandlung von SLE Patienten (13, 32), der dilatativen Kardiomyopathie (22), der Autoimmunthrombozytopenie (36) oder neurologischer Erkrankungen wie MS oder Guillain-Barre-Syndrom (7) verzeichnen. (50, 65, 68, 69, 70). Dabei ergaben sich bisher weder größere Behandlungsschwierigkeiten, noch unkontrollierbare unerwünschte Auswirkungen auf Blutparameter und Herz-Kreislauf-System der Patienten.

IV.3. Diskussion der Ergebnisse

Durch die Immunadsorption mit der LIFE 18™ Aphereseeinheit konnten alle Antikörperklassen, insbesondere aber die xenogenen Antikörper effizient auf sehr niedrige Spiegel gesenkt werden. Über den Wiederanstieg der Antikörper lässt sich nur schwer eine pauschale Aussage treffen, da sich hier bei allen Pavianen ein sehr unterschiedliches Bild ergibt.

Nun stellt sich die Frage, wie oft und zu welchen Zeitpunkten eine Apherese sinnvoll ist. Pav 32 erhielt nur zwei Apheresebehandlungen und überlebte 50 Tage, Pavian 40 erhielt fünf Behandlungen und erreichte 19 postoperative Tage. Betrachtet man auch die Häufigkeiten der Apherese bei allen anderen Tieren, so kann nicht festgestellt werden, dass die Häufigkeit der Apherese mit einem permanent niedrigen Antikörperspiegel zu korrelieren scheint. Zudem induziert die drastische Absenkung der Antikörperspiegel durch die IA auch eine Rekrutierung von IgG und IgM aus dem peripheren Gewebe. Diese versuchte man durch den Einsatz von IVIG einzudämmen. Betrachtet man dazu beispielsweise den Antikörperspiegel im Verlauf von Pav 35, so fällt auf, dass sich der Wiederanstieg der Antikörper bei Apherese drei gemäßiger darstellte als bei Apherese vier. Nach Apherese drei und der Gabe von 5000 I.E. IVIG stiegen die APA innerhalb der kommenden zwei Tage auf 1:300 an, bei Apherese vier auf 1:512. Somit lässt sich also ein exzessiver Anstieg der Antikörper nach Apherese eindämmen, jedoch nicht verhindern.

Auch verhalten sich die Antikörperspiegel und Herzenzyme postoperativ nicht bei allen Versuchstieren gleich, weshalb auch die medikamentöse Immunsuppression individuell angepasst werden musste.

Insofern erscheint es wenig sinnvoll, ein einheitliches Aphereseschema zu etablieren. Vielmehr sollte der Einsatz der Apherese eine Einzelfallentscheidung bleiben und abhängig von Antikörperspiegeln und etwaigen Abstoßungsvorgängen eingesetzt werden.

Doch welche Auswirkung hat nun die Immunapherese auf das Auftreten einer Abstoßung und somit auf das Transplantatüberleben. Aufgrund der geringen Versuchszahl auf der einen Seite und der kurzen Überlebenszeiten auf der anderen Seite lässt sich keine statistisch

belegbare Aussage darüber treffen. Jedoch lässt ein Blick auf die Sektionsergebnisse eine Einschätzung zu.

Bei keinem der Versuchstiere ergaben die Sektionsbefunde einen Anhalt auf humorale oder zelluläre Abstoßung. Bei Pavian 35 wurde an POD 19 bei Verdacht auf beginnende Abstoßung eine Immunapherese durchgeführt. Diese führte zu einer Absenkung der APA auf 1:128, zwei Tage später ergab der Hämagglutinationstest wieder einen Wert von 1: 512. Sechs Tage nach der Apherese verstarb das Tier, jedoch nicht wegen Transplantatabstoßung, sondern wegen eines hochparietalen Hirninfarkts. Zusammenfassend ist zu vermuten, dass sich der Einsatz der Immunapherese zusätzlich zu einer ausgeprägten medikamentösen Immunsuppression großes Potential hat, Abstoßungsmechanismen zu kontrollieren und in einem verlängerten Transplantatüberleben zu resultieren. Inwiefern der Einsatz der Immunapherese einen Einfluss auf die chronische Transplantatabstoßung hat, lässt sich aufgrund der geringen Überlebenszeiten nicht sagen.

IV.3.a Vergleich der Gruppen

Als Gruppe I werden die Pav 31 bis 34 bezeichnet, die nur eine präoperative Apheresebehandlung erhielten, als Gruppe II die Pav 35 bis 40, bei denen zwei präoperative Apheresebehandlungen durchgeführt wurden. Zunächst ist zu beobachten, ob es einen entscheidenden Unterschied der Ausgangswerte der Antikörper unmittelbar vor Transplantation gibt. Bei Pav 31 bis 34 lag der Ausgangswert bei 6,37 g/l für IgG und 0,47 für IgM. Im Vergleich dazu lagen die Werte der unmittelbar präoperativ durchgeführten und damit zweiten Apherese bei Pav 35 bis 40 bei 5,5 g/l bei IgG und 0,3 g/l bei IgM. Damit sind die Ausgangswerte direkt vor Transplantation zwar nicht sehr viel geringer, man muss jedoch beachten, dass Pav 35 bis 40 zum Teil einen höheren Ursprungswert hatten. Bei Pav 39 lag der IgG- Wert beispielsweise bei 7,7 g/l und ist damit wesentlich höher als der präoperative Wert von 4,3 g/l. Durch die zweite Apherese konnte dieser Wert dann nochmals auf 0,9 gesenkt werden. IgM lag dabei bei 0,5 g/l als Ursprungswert, bei 0,2 g/l präoperativ und bei 0,1 g/l nach der unmittelbar präoperativen Apherese. Auch bei Pav 40 lag der ursprüngliche IgG- Wert bei 9,5 g/l und der Wert vor Transplantation bei 4,9 g/l. Bei Pavian 37 wurden sogar drei präoperative Apheresen durchgeführt. Der erste Wert für IgG lag bei 10,2 g/l, bei Apherese zwei lag er bei 5,4 g/l und bei Apherese drei bei 4,9 g/l. Zwar lag damit der dritte Wert nochmals etwas unter dem zweiten, jedoch ist fraglich, ob ein derart geringer Unterschied den Aufwand einer dritten präoperativen Apherese rechtfertigt. In unserer Versuchsgruppe blieb

man bei zwei praeoperativen Apheresen und angesichts der vorliegenden Werte scheint dies auch am sinnvollsten zu sein. Zumal muss auch beachtet werden, dass die plötzliche Absenkung der Antikörperwerte durch die Apherese eine Rekrutierung von Antikörpern aus dem peripheren Gewebe hervorruft und schliesslich potentiell zu einem höheren Endwert als Ausgangswert, oder sogar zu einem Rebound Effekt führen kann.

Beachtet man die Befunde der Herzultraschalluntersuchungen, so fällt auf, dass sich bei beiden Gruppen ab etwa 11-14 postoperativen Tagen eine Hypertrophie des Spenderherzens einzustellen scheint. Obwohl diese Befunde von Wanderverdickungen und Einblutungen eine akute Abstossung vermuten lassen, zeigte sich im histologischen Präparat bei keinem Tier Hinweise auf eine zelluläre oder humorale Abstossung. Es bleibt daher fraglich, ob die Sektionsbefunde das Ergebnis eines Abstossungsprozesses sind oder durch hämodynamische Komplikationen hervorgerufen wurden. Es kann jedoch auch anhand der postoperativen Verläufe der Antikörper festgestellt werden, dass die Anzahl der präoperativen Immunapheresen keinen direkten Einfluss auf den postoperativen Verlauf und das Transplantatüberleben hat. Allerdings tragen wiederholte präoperative Apheresen zu einem möglichst niedrigen Ausgangswert der Antikörper bei, der wiederum durchaus eine entscheidene Rolle für die Neubildung xenoreaktiver Antikörper und somit auf die Vermeidung von Abstossungsvorgängen spielt.

IV.3.b Belastung des Organismus durch die Apherese

Bei der Frage, ob eine Apherese durchzuführen ist oder nicht, muss auch der Allgemeinzustand des Tieres berücksichtigt werden. Jede Behandlung mit der Aphereseinheit setzt eine Narkoseeinleitung voraus, die an sich schon viele Risiken birgt. Hämodynamisch lassen sich aber die Auswirkungen der Apherese gut kontrollieren. Bei keinem Tier war der Einsatz von blutdruckregulierenden Medikamenten notwendig, es wurde lediglich Volumen in Form von Ringer-Lactat-Lösungen oder Vollelektrolytlösungen verabreicht. Hinsichtlich der Blutelektrolyte ergaben sich die größten Auswirkungen auf den Kalium-Wert, was sich aber durch Substitution von Kalium gut ausgleichen ließ. Am kritischsten ist die nicht selten drastische Absenkung der Thrombozyten durch die Apherese. Hier ergab sich im Durchschnitt eine Absenkung um 34,7 %. Besonders bei den direkt präoperativen Ergebnissen muss das berücksichtigt werden, da durch die OP ein weiterer Thrombozytenabfall zu erwarten ist. Eine Substitution von Plättchen in der Form von Thrombozytenkonzentraten hat den entscheidenden Nachteil, dass dadurch zusätzliche xenoreaktive Antikörper ebenfalls zugeführt werden und

dies eigentlich obsolet ist. Hierbei müsste man dann evtl. eine vorherige die Antikörperspiegel reduzierende Behandlung der Plättchenkonzentrate in Erwägung ziehen, was natürlich wieder mit einem gewissen Mehraufwand und damit Kosten verbunden ist.

Abgesehen davon wurde die Apherese aber von allen Tieren gut toleriert, weitere schwerwiegende Auswirkungen auf den Organismus ergaben sich nicht. Im Hinblick auf die Notwendigkeit der Narkose ist es sinnvoll, die Apherese gegebenenfalls mit weiteren Interventionen bzw. Untersuchungen zu kombinieren.

IV.4. Veränderungen und Vorteile der Therasorb Life 18™ Aphereseeinheit gegenüber dem Vorgängermodell

Bei der Therasorb Life 18 Aphereseeinheit ® (Miltenyi) handelt es sich um eine Weiterentwicklung des Vorgängermodells Ig Therasorb. Dieses wurde in vorherigen Versuchen unter Brenner et al. eingesetzt (9, 10, 11). Dabei handelt es sich um verschiedene Versuchsreihen. Erstmals wurde die Ig Therasorb an Cynomolgus- und Rhesusaffen experimentell eingesetzt. Dabei wurden zwei Cynomolgus-Affen orthotop transplantiert, ein Cynomolgus-Affe und zwei Rhesusaffen heterotop. Vier weitere Cynomolgus-Affen wurden ebenfalls heterotop transplantiert, dienten aber als Kontrollgruppe und erhielten keine Apherese. Medikamentöse Immunsuppressiva wurden dabei nicht verabreicht. Da diese Versuchsreihe nicht zur Langzeitbeobachtung zugelassen war, wurden die Versuche im Fall der heterotopen Transplantationen nach 140 min \pm 35 min, die orthotopen Transplantationen nach 130 \pm 21 min terminiert. Alle Versuchstiere erhielten unmittelbar präoperativ zwei Apherese-Zyklen. Bei den orthotopen Transplantationen wurde das Blut aus dem extrakorporalen Kreislauf abgeleitet, bei den heterotopen aus einem zentralvenösen Katheter (9, 10, 11). Bei der Kontrollgruppe konnten nach 60 min im Blut keine APA mehr festgestellt werden, da diese durch Adhäsion am Xenotransplantat aus dem Blut eliminiert worden waren. Bei den mit der Aphereseeinheit behandelten Affen konnte eine Depletion von IgG um 80% und von IgM um 86% erreicht werden. Zieht man nun nochmals die bei Pav 31 bis Pav 40 erreichte Depletion von IgG um 74,5% und IgM um 48 % heran, erscheint diese auf den ersten Blick weniger effizient. Jedoch muss Folgendes berücksichtigt werden. Die geringere erreichte Eliminierung ist vor dem Hintergrund zu sehen, dass es sich hier um Langzeitversuche handelte, bei denen auch eine intensive medikamentöse Immunsuppression verwendet wurde. Somit waren die Ausgangstitel der Antikörper wesentlich niedriger als in den früheren Versuchen. Eder gibt in ihrer Dissertation für die Versuchsgruppe mit Pavianen

Ausgangstitern von 9,43 g/l für IgG und 0,6 g/l für IgM an. In unseren Versuchen herrschten Ausgangstitern von durchschnittlich 6,4 g/l IgG und 0,41 g/l IgM. Somit kann aus der prozentual geringeren Elimination nicht geschlossen werden, dass die neue Apheresemaschine weniger effizient wäre. Ein großes Problem, das im Rahmen der Versuche mit Cynomolgus und Rhesusaffen aufgetreten war, war zum einen eine massive Hämodilution bis zu Hb-Werten von weniger als 5 mg/dl. Zum anderen kam es zu einem massiven Thrombozytenverlust von durchschnittlich 50%. Abgesehen davon kam es zu hypotonen Phasen während der Behandlungen, bei denen der systolische Blutdruck auf Werte bis zu 50 mmHg sank und der Einsatz von Katecholaminen notwendig wurde. Dies war der Tatsache geschuldet, dass es sich um kleine Affen mit einem Gewicht von 4,5-6,4 kg handelte und allein eine der zwei Säulen der Ig Therasorb Aphereseeinheit ein extrakorporales Volumen von 300 ml beansprucht, hinzu kommen ca. 250 ml durch das Schlauchsystem. Zwar musste kein Versuch deswegen abgebrochen werden, jedoch muss man berücksichtigen, dass die Tiere in ausgezeichnetem Allgemeinzustand behandelt wurden. Sieht man dies nun vor dem Hintergrund von Langzeitversuchen, in denen der postoperative Allgemeinzustand der Tiere wesentlich kritischer ist, stellt ein großes extrakorporales Volumen ein wesentliches Risiko dar. Bei der bei Pav 31 bis 40 verwendeten Therasorb Life 18™ wird ein extrakorporales Volumen von insgesamt lediglich 300 ml beansprucht. Somit wirkt sich der Volumenentzug auf den Organismus des Patienten wesentlich unproblematischer aus und macht damit auch einen Einsatz der Life 18™ bei Säuglingen und Kleinkindern möglich. Auch eine massive Hämodilution konnte bei unserer Versuchsreihe nicht mehr festgestellt werden. Die Absenkung des Hämatokrit lag lediglich bei durchschnittlich 16% . Allein der Verlust von Thrombozyten von durchschnittlich 34% stellt noch immer ein Problem dar. Dies muss vor allem bei den unmittelbar präoperativ erfolgenden Apheresen berücksichtigt werden, da ja durch den extrakorporalen Kreislauf und die OP weitere Thrombozytenverluste zu erwarten sind. Daher sollten möglichst antikörperfreie Blutprodukte zur eventuellen Substitution bereitgehalten werden, um gefährlichen Blutungen vorzubeugen.

Auch Paviane wurden von Brenner et al. mit der Ig Therasorb behandelt (11). Eine Versuchsreihe bestand aus insgesamt vier Pavianen mit einem Gewicht von 17 bis 26 kg, die alle orthotop nicht transgene Landrasseschweineherzen erhielten. Drei der Tiere erhielten vier Zyklen Apherese, ein Tier diente als Kontrollgruppe und erhielt keine Apherese. Das Blut wurde über einen extrakorporalen Kreislauf der Aphereseeinheit zugeführt. Die Versuche wurden nach 100 min, 11h und 21h nach Reperfusion beendet. Durch die Apherese wurden 94 % der IgM und 85,5% der IgG depletiert. Zwar traten bei dieser Versuchsgruppe keine

Probleme durch den Volumenentzug auf, dennoch kam es auch hier zu einer massiven Hämodilution mit Hb-Werten von unter 6 mg/dl und zu Thrombozytenverlusten von 50%. Auch Langzeitstudien wurden mit der Ig-Therasorb durchgeführt. Dabei wurden insgesamt 12 Paviane transplantiert (12). Acht davon heterotop, wobei vier ein nicht transgenes Landrasseschweineherz erhielten, vier ein hDAF transgenes Herz. Vier weitere wurden orthotop transplantiert und erhielten ebenfalls nur ein nicht transgenes Herz. Alle Versuchstiere erhielten präoperativ eine Behandlung mit der Aphereseeinheit, wobei 4-14 Zyklen durchgeführt wurden. Ebenfalls erhielten alle Paviane zusätzlich eine medikamentöse immunsuppressive Therapie. Die Überlebenszeit reichte von 5 min bis 1,2 Tage bei der orthotop transplantierten Gruppe bis hin zu 15,2 Tagen bei der heterotop nicht transgen transplantierten Gruppe. Durchschnittlich konnten durch die Apherese 90% IgG und 78% IgM depletiert werden. Auch hier ist darauf hinzuweisen, dass die Ausgangstitel der Antikörper höher waren als bei der aktuellen Versuchsreihe. Zwar wurde die Behandlung bei Pavianen besser toleriert, dennoch kam es hier vor allem zu Behandlungsbeginn zu hypotonen Phasen, die den Einsatz von Katecholaminen notwendig machten. Die Hämodilution zeigte sich hier weniger dramatisch als bei den anderen Versuchsreihen, es blieb allerdings das Problem der Thrombozytenabsenkung, im extremsten Fall lag diese bei 61%. Anzumerken ist auch, dass bis auf eine Ausnahme keines der Tiere postoperativ nochmals mit einer Apherese behandelt wurde. Eder merkt an, dass sich während der Versuche der zweite bis neunte POD als am kritischsten für die Entwicklung einer AVR erwiesen hatte. Sie schlägt daher eine regelhafte Apherese an POD 2 und dann alle drei bis fünf Tage vor. Die Versuche bei Pav 31 bis 40 haben gezeigt, dass ein solches System nicht praktikabel ist. Es ließ sich postoperativ kein gemeinsamer Trend bezüglich des Verlaufs der Antikörperspiegel und der Herzenzyme darstellen. Auch musste die medikamentöse Immunsuppression individuell angepasst werden. Hinzu kommt, dass auch der Allgemeinzustand des Tieres ausschlaggebend dafür ist, ob eine Apherese durchgeführt werden kann. Ebenso ist die Induktion der Antikörperrekrutierung aus dem peripheren Gewebe durch die Apherese zu berücksichtigen. Wie schon weiter oben erwähnt, erscheint es also sinnvoller, individuell angepasst und anhand der Antikörperspiegel und Abstoßungszeichen die Entscheidung über die Durchführung einer Apherese zu treffen.

Vergleich der Ig Therasorb mit der Therasorb Life 18™

Bezüglich des Aufbaus sind beide Aphereseeinheiten ähnlich. Auch die Ig Thersorb Einheit arbeitete mittels eines Plasmaseparators, eines Schlauchsystems und zweier Apheresesäulen. Ebenfalls war das Prinzip der Antikörperbindung gleich. Einer der größten Unterschiede

besteht aber in der Menge des extrakorporalen Volumens, welches durch die Einheiten in Anspruch genommen wird. Bei der Ig Therasorb wurden pro Säule allein 300 ml Plasma beansprucht, weitere 250 ml durch das Schlauchsystem (Eder). Bei der neueren Life 18™ sind für die Säulen jeweils nur noch 100 ml zu veranschlagen, für den Disc-Separator 50 ml. Durch Modifikation und Verbesserung des Schlauchsystems wurde auch hier die Volumenmenge auf 50 ml verringert. Zwar kann dadurch pro Zyklus die Adsorbereinheit mit weniger Plasma beladen werden, was etwas mehr Zyklen erforderlich macht, jedoch wird die Behandlung vor allem von kleineren Tieren wesentlich besser toleriert als noch beim Vorläufermodell.

Die Life 18™ Einheit beinhaltet außerdem verbesserte Sicherheitsmechanismen. Sensoren überprüfen das System permanent auf Lufteinschlüsse oder Hämolyse und detektieren den Druck im Schlauchsystem. Bei Abweichungen geben sie frühzeitig einen Alarm ab, sodass schnell eingegriffen werden kann. Auch bei Pav 31 bis 40 kam es bei wenigen Behandlungen zu Hämolysealarmen, was jedoch früh angezeigt wurde und somit durch Spülen der Adsorber behoben werden konnte. Des Weiteren wurde die Bedienungssoftware weiter vereinfacht. Über einen Bildschirm wird man nun über die notwendigen Schritte informiert und benutzerfreundlich angeleitet.

V.Zusammenfassung

Auch wenn durch die geringe Anzahl der Versuchstiere keine statistischen Berechnungen zur Validierung der Ergebnisse möglich sind, kann doch deutlich gezeigt werden, dass die Immunapherese ein effizientes Mittel zur Antikörperabsenkung ist. Sie eignet sich zum einen zur dauerhaften Erhaltung möglichst niedriger Antikörperspiegel, kann aber aufgrund der schnellen Verfügbarkeit auch als Rescue-Therapie eingesetzt werden. Ein grosser Vorzug gegenüber anderen Filtrationsverfahren ist die Wiederverwendbarkeit und hohe Spezifität der Apheresesäulen. Es können effizient und sehr spezifisch Immunglobuline adsorbiert werden, ohne dass weitere Plasmabestandteile während der Filtration verloren gehen.

In unserer Versuchsreihe kam es auch postoperativ trotz des stark reduzierten Allgemeinzustandes der Tiere während der Apherese zu keinen hämodynamischen oder anderen Komplikationen, die sich nicht durch Volumengabe oder Veränderung der Flussraten hätten beheben lassen können. Dies liegt sicherlich auch an dem im Vergleich zum Vorgängermodell stark reduzierten intramaschinellen Blutvolumen. Zudem ist das Blutvolumen von Pavianen wesentlich geringer als das von Menschen, sodass bei der klinischen Anwendung mit weitaus weniger Zwischenfällen in Form von Blutdruckspitzen oder –abfällen gerechnet werden kann.

Die Immunapherese führt zu Veränderungen des kleinen Blutbilds sowie von Natrium, Kalium und Kalzium. Diese Werte sollten daher auch weiterhin vor und nach Apheresebehandlungen engmaschig kontrolliert werden. Hervorzuheben ist dabei vor allem der oft drastische Abfall der Thrombozyten. Die außerdem zur Vermeidung von Blutgerinnselbildungen während der Behandlung nötige Gabe von Heparin und ACD-A verstärkt eine postapheretische Blutungsneigung weiterhin. Die Gabe von blutverdünnenden Medikamenten muss daher mit äußerster Vorsicht kalkuliert und die Plättchenspiegel mit großer Aufmerksamkeit kontrolliert werden. Bei unseren Versuchen war allerdings keine Substitution von Thrombozytenkonzentraten notwendig und auch nach Behandlung kam es zu keinen intra- oder extrakorporalen Blutverlusten.

Es stellte sich als sinnvoll und effizient heraus, bereits vor der Transplantation zwei Apheresen durchzuführen. Eine sollte dabei zwei Tage vor Operation und eine direkt präoperativ stattfinden. Dadurch können die Antikörperspiegel bereits vor OP auf niedrigste Werte gebracht und ein massiver Antikörperanstieg nach Exposition des Organismus mit dem

Transplantat verringert werden. Nach Transplantation sollte die Aphereseentscheidung individuell von dem Spiegel von IgG, IgM und der antiPig Antikörper getroffen werden.

Welchen Anteil die Immunapherese an der Vermeidung einer akuten oder chronischen Abstossung in der gesamten immunsuppressiven Therapie einnimmt, muss in weiteren Versuchen herausgestellt werden. Durch die hier behandelten Versuche zeichnete sich dazu ein starkes Potential ab. Zu empfehlen ist dabei, die Apherese mit weiteren Verfahren oder Untersuchungen im Rahmen des prä- und postoperativen Managements zu verbinden, um die Anzahl der Narkosen pro Tier möglichst gering zu halten und dabei auch kostenschonend zu arbeiten.

I. LITERATURVERZEICHNIS

1. Alexandre GPJ, Squifflet JP, De Bruyere M, et al. *Present experiences in a series of 26 ABO-incompatible living donor renal allografts*. Transplant Proc 1987; 19:4538
1. Alexandre GPJ, Gianello P, Latinne D, et al. *Plasmapheresis and splenectomy in experimental renal xenotransplantation*. In: HARDY MA, ed. Xenograft, 25. New York: , Elsevier, 1989.
2. Allan JS. *The risk of using baboons as transplant donors: exogenous and endogenous viruses*. Ann N Y Acad Sci. 1998; 862:87–99.
3. Azimzadeh A, Meyer C, Watier H, et al. *Removal of primate xenoreactive natural antibodies by extracorporeal perfusion of pig kidneys and livers*. Transplant Immunol 1998; 1: 13.
4. Bach FH, *Transplanting porcine hearts to humans*. BMJ. 1996 Mar 16;312(7032):651-2
5. Banyai S, Mayer N, Zeithofer J, Apsner R, Derfler K. *IgG-Immunadsorption bei Patienten mit neurologischen Erkrankungen*. Symposium der Med. Hochschule Hannover. 28.02.-01.03.1997; Hannover
6. Brandl U, Michel S, Erhardt M, Brenner P, Bittmann I, Rössle M, Baschnegger H, Bauer A, Hammer C, Schmoeckel M, Reichart B. *Administration of GAS914 in an orthotopic pig-to-baboon heart transplantation model*. Xenotransplantation 2005;12(2):134–41
7. Brenner P, Schmoeckel M, Huber H, Vetter HO, Müller-Höcker J, Hammer C, Reichart B., *Effect of antibody reduction with immune apheresis Ig-Therasorb on hyperacute rejection in a xeroperfusion model*, Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd. 1998;115(Suppl I):645-50.
8. Brenner P, Hinz M, Huber H, Schmoeckel M, Reichenspurner H, Meiser B, Hammer C, Reichart B., *The influence of antibody and complement removal with a Ig-Therasorb column in a xenogeneic working heart model*. Eur J Cardiothorac Surg. 1999 May;15(5):672-9
9. Brenner P, Reichenspurner H, Schmoeckel M, Wimmer C, Rucker A, Eder V, Meiser B, Hinz M, Felbinger T, Hammer C, Reichart B., *Prevention of hyperacute xenograft rejection in orthotopic xenotransplantation of pig hearts into baboons using immunoadsorption of antibodies and complement factors*, Transpl Int. 2000;13 Suppl 1:S508-17.
10. Brenner P, Schmoeckel M, Wimmer C, Rucker A, Eder V, Uchita S, Brandl U, Hinz M, Felbinger T, Meiser B, Hammer C, Reichenspurner H, Reichart B.,

Combination of hDAF-transgenic pig hearts and immunoadsorption in heterotopic xenotransplantation of immunosuppressed baboons. Transplant Proc. 2005 Jan-Feb;37(1):483-6

11. Biesenbach P, Schmaldienst S, Smolen JS, Hörl WH, Derfler K, Stummvoll GH, *Immunoadsorption in SLE: three different high affinity columns are adequately effective in removing autoantibodies and controlling disease activity.* Atheroscler Suppl. 2009 Dec 29;10(5):114-21
12. Byrne GW, McGregor CGA, *Cardiac Xenotransplantation: Progress and Challenges,* Curr Opin Organ Transplant. 2012 April ; 17(2): 148–154.
13. Chen G, Qian H, Starzl T, Sun H, Garcia B, Wang X, Wise Y, Liu Y, Xiang Y, Copeman L, Liu W, Jevnikar A, Wall W, Cooper DK, Murase N, Dai Y, Wang W, Xiong Y, White DJ, Zhong R. *Acute rejection is associated with antibodies to non-Gal antigens in baboons using Gal-knockout pig kidneys.* Nat Med 2005;11(12):1295–8
14. Chen G, Sun H, Yang H, et al. *The role of anti-non-Gal antibodies in the development of acute humoral xenograft rejection of hDAF transgenic porcine kidneys in baboons receiving anti-Gal antibody neutralization therapy.* Transplantation 2006; 81: 273.
15. Cooper DKC, Good AH, Koren E, et al. *Identification of α -galactosyl and other carbohydrate epitopes that are bound by human anti-pig antibodies: relevance to discordant xenografting in man.* Transplant Immunol 1993; 1: 198.
16. Cooper DKC, Koren E, Oriol R. *Oligosaccharides and discordant xenotransplantation.* Immunol Rev 1994;141: 31.
17. Cooper DKC, Dorling A, Pierson RN III, et al. *α 1,3-galactosyltransferase gene-knockout pigs: where do we go from here?* Transplantation 2007;84(1):1–7.
Characterization of Natural Human Anti-Non-Gal Antibodies and Their Effect on Activation of Porcine Gal-Deficient Endothelial Cells
18. Dalmaso AP, Vercellotti GM, Fischel RJ, et al. *Mechanism of complement activation in the hyperacute rejection of porcine organs transplanted into primate recipients.* Am J Pathol 1992; 140: 1157
19. Dörffel WV, Wallukat G, Dörffel Y, Felix SB, Baumann G., *Immunoadsorption in idiopathic dilated cardiomyopathy, a 3-year follow-up,* Int J Cardiol. 2004 Dec. 97(3):529-34.
20. Euler HH, Zeuner RA, Schroeder JO. Plasma exchange in systemic lupus erythematoses. Transfus Sci. 1996;17:245-265.
21. Ezzelarab M, Garcia B, Azimzadeh A, et al. *The innate immune response and activation of coagulation in α 1,3 galactosyltransferase gene-knockout xenograft recipients.* Transplantation 2009;87:805–812.

22. Galili U, Clark MR, Shohet SB, Buehler J, Macher BA. *Evolutionary relationship between natural anti-Gal antibody and the Gal α (1-3)Gal epitope in primates.* Proc Natl Acad Sci USA. 1993;84:1369-1373.78.
23. Galili U. *Evolution and pathophysiology of the human natural anti-alpha Gal antibody.* Springer Sem Immunopathol. 1993;15:155-171.80.
24. Galili U. *Interaction of the natural anti-Gal antibody with alpha-galactosyl epitopes: a major obstacle for xenotransplantation in humans.* Immunol Today. 1993;14:480-482.
25. Galili U, Anaraki F, Thall A, et al. *One percent of circulating B lymphocytes are capable of producing the natural anti-Gal antibody.* Blood 1993; 82: 2485
26. Galili U, Shohet SB, Kobrin E, et al. *Man, apes and Old World monkeys differ from other mammals in the expression of α -galactosyl epitopes on nucleated cells,* J Biol Chem 1988; 263: 17755.
27. Galili U, Rachmilewitz EA, Peleg A, et al. *A unique natural human IgG antibody with anti- α -galactosyl specificity.* J Exp Med 1984; 260: 1519.
28. Graninger M, Schmaldienst S, Derfler K, Graninger WB., *Immunoabsorption therapy (therasorb) in patients with severe lupus erythematosus,* Acta Med Austriaca. 2002;29(1):26-9.
29. Good AH, Cooper DKC, Malcolm AJ, et al. *Identification of carbohydrate structures that bind human anti-porcine antibodies: implications for discordant xenografting in humans.* Transplant Proc 1992; 24: 559
30. Goodall, J. *Ethical concerns in the use of animals as donors.* In: Hardy, MA., editor. Xenograft 25. Excerpta Medica International Congress Series, Elsevier Science; Amsterdam, Netherlands: 1989. p. 335-349
31. Houser SL, Kuwaki K, Knosalla C, Dor FJ, Gollackner B, Cheng J, Shimizu A, Schuurman HJ, Cooper DK. *Thrombotic microangiopathy and graft arteriopathy in pig hearts following transplantation into baboons.* Xenotransplantation 2004;11(5):416–25
32. Julius U, Patzak A, Schaich M, Ehninger G, Kamin G., *Immune thrombocytopenia, anemia and leukopenia during pregnancy. Successful therapy with extracorporeal immunoabsorption,* Dtsch Med Wochenschr. 1997 Feb 21;122(8):220-4
33. Karoor S, Molina J, Buchmann CR, Colton C, Logan JS, Henderson LW, *Immunoaffinity Removal of Xenoreactive Antibodies Using Modified Dialysis or Microfiltration Membranes.* Biotechnology and Bioengineering , VOL. 81, No. 2, January 20, 2003

34. Kiernan K, Harnden I, Gunthart M, et al. *The anti-non-gal xenoantibody response to xenoantigens on gal knockout pig cells is encoded by a restricted number of germline progenitors*. Am J Transplant 2008;8:1829–1839
35. Kolber-Simonds D, Lai L, Watt SR, Denaro M, Arn S, Augenstein ML, Betthausen J, Carter DB, Greenstein JL, Hao Y, Im GS, Liu Z, Mell GD, Murphy CN, Park KW, Rieke A, Ryan DJ, Sachs DH, Forsberg EJ, Prather RS, Hawley RJ. *Production of alpha-1,3-galactosyltransferase null pigs by means of nuclear transfer with fibroblasts bearing loss of heterozygosity mutations*. Proc Natl Acad Sci USA 2004;101:7335–7340
36. Koll RA. *Ig-Therasorb immunoadsorption for selective removal of human immunoglobulins in diseases associated with pathogenic antibodies of all classes and IgG subclasses, immune complexes, and fragments of immunoglobulins*. Ther Apher. 1998;2:147-152
37. Koren E, Neethling FA, Richards S, et al. *Binding and specificity of major immunoglobulin classes of preformed human anti-pig heart antibodies*. Transplant Int 1993; 6: 351.
38. Kozlowski T, Ierino F, Lambrigts D, Foley A, Andrews D, Awwad M, Monroy R, Cosimi AB, Cooper DKC, Sachs DH. *Depletion of anti-Gal α 1-3Gal antibody in baboons by specific α -Gal immunoaffinity columns*. Xenotransplantation 1998; 5: 122-131
39. Kujundzic M, Koren E, Neethling FA, et al. *Variability of anti- α Gal antibodies in human serum and their relation to serum cytotoxicity against pig cells*. Xenotransplantation 1994
40. Kuwaki K, Tseng YL, Dor FJ, et al. *Heart transplantation in baboons using α 1,3-galactosyltransferase gene-knockout pigs as donors: initial experience*. Nat Med 2005;11:29–31. 8
41. Lin SS, Weidner BC, Byrne GW, Diamond LE, Lawson JH, Hoopes CW, Daniels LJ, Daggett CW, Parker W, Harland RC, Davis RD, Bollinger RR, Logan JS, Platt JL. *The role of antibodies in acute vascular rejection of pig-to-baboon cardiac transplants*. J Clin Invest 1998;101:1745–1756
42. Lexer G, Cooper DKC, Rose AG, et al. *Hyperacute rejection in a discordant (pig-to-baboon) cardiac xenograft model*. J Heart Transplant 1986; 5: 411.
43. McGregor CG, Davies WR, Oi K, Teotia SS, Schirmer JM, Risdahl JM, Tazelaar HD, Kremers WK, Walker RC, Byrne GW, Logan JS. *Cardiac xenotransplantation: recent preclinical progress with 3-month median survival*. J Thorac Cardiovasc Surg 2005;130(3):844–51
44. Macchirini P, Oriol R, Azimzadeh A, et al. *Evidence of human non- α -galactosyl antibodies involved in the hyperacute rejection of pig lungs and their removal by pig organ perfusion*. J Thorac Cardiovasc Surg 1998; 5: 831.

45. Miwa Y., Xenotransplantation 2004; 11: 247–253
Printed in UK.
46. Du Moulin A, Müller-Derlich J, Bieber F, Richter WO, Frei U, Müller R, Spaethe R. *Antibody-based immunoadsorption as a therapeutic means*. Blood Purif. 1993;11:145-149.
47. Murray-Segal L, Gock H, Cowan PJ, et al. *Anti-Gal antibody-mediated skin graft rejection requires a threshold level of Gal expression*. Xenotransplantation 2008;15:20–26
48. Nguyen BN, Azimzadeh AM, Zhang T, Wu G, Schuurman HJ, Sachs DH, Ayares D, Allan JS, Pierson RN 3rd. *Life-supporting function of genetically modified swine lungs in baboons*. J Thorac Cardiovasc Surg 2007;133(5):1354–63
49. Padler-Karawani V, Varki A, *Potential Impact of the Non-Human Sialic Acid NGlycolylneuraminic Acid on Transplant Rejection Risk Xenotransplantation*. 2011 ; 18(1): 1–5.
50. Phelps CJ, Koike C, Vaught TD, Boone J, Wells KD, Chen SH, Ball S, Specht SM, Polejaeva IA, Monahan JA, Jobst PM, Sharma SB, Lamborn AE, Garst AS, Moore M, Demetris AJ, Rudert WA, Bottino R, Bertera S, Trucco M, Starzl TE, Dai Y, Ayares DL. *Production of alpha 1,3- galactosyltransferase-deficient pigs*. Science 2003;299(5605):411–4
51. Pierson RN, *Antibody-mediated Xenograft Injury: Mechanisms and Protective Strategies*, Transpl Immunol. 2009 June 21(2): 65–69.
52. Rieben R, Seebach JD, *Xenograft rejection: IgG1, complement and NK cells team up to activate and destroy the endothelium*, Trends Immunol. 2005 Jan;26(1):2-5
53. Rood P, Tai HC, Hara H, et al. *Late onset of development of natural anti-non Gal antibodies in infant humans and baboons: implications for xenotransplantation in infants*. Transpl Int 2007;20:1050–1058.
54. Marit Sæthre,1,4 Bettina C. Baumann,2 Michael Fung,3 Jo`rg D. Seebach,2 and Tom Eirik Mollnes1 *Transplantation* 2007;84: 244–250
55. Sandrin MS, Vaughan HA, Dabkowski PL, McKenzie IFC, *Anti-pig IgM antibodies in human serum react predominantly with Gal(al-3)Gal epitopes*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 90, Dec 1993, pp. 11391-11395
56. Schirmer JM, Fass DN, Byrne GW, Tazelaar HD, Logan JS, McGregor CGA. *Effective antiplatelet therapy does not prolong transgenic pig to baboon cardiac xenograft survival*. Xenotransplantation 2004; 11: 436–443.
57. Schneider KM, Gaubitz M, Perniok A. *Immunoadsorption in systemic connective tissue diseases and primary vasculitis*. Ther Apher. 1997;1:117-120.

58. Schneider KM. *Plasmapheresis and immunoadsorption: different techniques and their current role in medical therapy*. Kidney Int. 1998;53 Suppl. 64:61-65.
59. Shimizu A., Hisashi Y, Kuwaki K, Tseng YL, Dor FJMF, Houser SL, Robson SC, Schuurman HJ, Cooper DKC, Sachs DH, Yamada K, Colvin RB, *Thrombotic Microangiopathy Associated with Humoral Rejection of Cardiac Xenografts from 1,3-Galactosyltransferase Gene-Knockout Pigs in Baboons*, The American Journal of Pathology, Vol. 172, No. 6, June 2008 Copyright © American Society for Investigative Pathology DOI: 10.2353/ajpath.2008.070672
60. Stoffel W, Borberg H, Greve V. *Application of specific extracorporeal removal of low density lipoprotein in familial hypercholesterinemia*. Lancet. 1981;1:1005-1007
61. Stone KR, Abdel-Motal U, Walgenbach AW, et al. *Replacement of human anterior cruciate ligament with pig ligament: A model for anti-non gal antibody response in long-term xenotransplantation*. Transplantation 2007; 83: 211.
62. Suga H, Ishida H, Kimikawa M, Hayasaka Y, Teraoka S, Agishi T, Ota K, *Prolongation of Cardiac Xenograft Function after Reduction of Natural Antibodies Using Double Filtration Plasmapheresis*, ASAIO Trans. 1991 Jul-Sep;37(3):M433-4
63. Toepfer M, Sitter T, Burchardi C, Held E, Schiffel H. *Klinische Immunadsorption*. Dtsch Med Wochenschr. 1999;124:461-465.
64. Toepfer M, Sitter T, Spannagl M, Schramm W, Müller-Felber W, Pongratz D, Held E, Schiffel H. *Zirkulierende Immunglobuline selektiv entfernen*. Fortschr Med. 1999;117:38-39
65. Wallukat G, Reinke P, Dörffel WV, Luther HP, Bestvater K, Felix SB, Baumann G. *Removal of autoantibodies in dilated cardiomyopathy by immunoadsorption*. Int J Cardiol. 1996;54:191-195
66. Wu G, Pfeiffer S, Schröder S, et al. *Co-stimulation blockade targeting CD154 and CD28/B7 modulates the induced antibody response after a pig-to-baboon cardiac xenograft*. Xenotransplantation 2005;12 (3):197–208
67. Wu G, Pfeiffer S, Schroder C, Zhang T, Nguyen BN, Kelishadi S, Atkinson JB, Schuurman HJ, White DJ, Azimzadeh AM, Pierson RN III. *Coagulation cascade activation triggers early failure of pig hearts expressing human complement regulatory genes*. Xenotransplantation 2007;14:34–47
68. Yamada K, Yazawa K, Shimizu A, et al. *Marked prolongation of porcine renal xenograft survival in baboons through the use of α 1,3-galactosyltransferase gene-knockout donors and the cotransplantation of vascularized thymic tissue*. Nat Med 2005;11:32–34

69. Ye Y, Neethling FA, Niekras M, et al. *Evidence that intravenously administered alpha-galactosyl carbohydrates reduce baboon serum cytotoxicity to pig kidney cells (PK15): and transplanted pig hearts*. Transplantation 1994; 58: 330.

II. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildungen

- Abb. 1 Therasorb LIFE 18 Aphereseeinheit
- Abb. 2 Ableitung des Patientenbluts für die Apherese aus dem zentralvenösen Katheter
- Abb. 3 Therasorb-Disk Separator, rechts vor Benutzung, links während einer Apheresebehandlung
- Abb. 4 Therasorb Ig flex Adsorber
- Abb. 5 Anzeige während der Behandlung
- Abb. 6 Verlauf von Blutdruck und Puls bei Apherese zwei von Pavian 32
- Abb. 7 postoperativer Verlauf von IgG und IgM bei Pav 32
- Abb. 8 postoperativer Verlauf von IgG und IgM bei Pav 33
- Abb. 9 postoperativer Verlauf von IgG und IgM bei Pav 35
- Abb. 10 postoperativer Verlauf von IgG und IgM bei Pav 36
- Abb. 11 postoperativer Verlauf von IgG und IgM bei Pav 38
- Abb. 12 postoperativer Verlauf von IgG und IgM bei Pav 39
- Abb. 13 postoperativer Verlauf von IgG und IgM bei Pav 40
- Abb. 14 postoperativer Verlauf von APA bei Pav 32
- Abb. 15 postoperativer Verlauf von APA im ELISA bei Pav 33
- Abb. 16 postoperativer Verlauf von APA im ELISA bei Pav 34
- Abb. 17 postoperativer Verlauf von APA im ELISA bei Pav 36
- Abb. 18 postoperativer Verlauf von APA im ELISA bei Pav 37
- Abb. 19 postoperativer Verlauf von APA im Elisa bei Pav 38
- Abb. 20 postoperativer Verlauf von APA im ELISA bei Pav 39
- Abb. 21 postoperativer Verlauf von APA im Elisa bei Pav 40

Tabellen

- Tabelle 1 Überlebenszeiten und Anzahl der Behandlungszyklen von Pavian 31 bis 40
- Tabelle 2 Technische Einzeldaten zu den Apheresebehandlungen der Paviane 31 bis 40
- Tabelle 3 Veränderung der Blutwerte im Rahmen der Apherese in Prozent
- Tabelle 4 Übersicht ueber die prozentuale Absenkung von IgG, IgM und APA durch die IA

III. DANKSAGUNG

Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. Paolo Brenner für die Vergabe des Themas und die Betreuung und Förderung.

Für die intensive Mitbetreuung bedanke ich mich bei Herrn Dr. Michael Thormann, Frau Dr. Sonja Guethhoff und Herrn Johannes Postrach.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Bruno Reichart, ehem. Direktor der Herzchirurgischen Klinik im Klinikum Großhadern und Leiter dieser Forschungsgruppe, für die Ermöglichung der Mitwirkung an seinem Forschungsprojekt.

Ich möchte mich desweiteren bei Herrn Dr. Andreas Bauer und Herrn Dr. Jan Abicht für die anästhesiologische Betreuung der Versuchstiere bedanken.

Ich bedanke mich bei Herrn Andreas Müller-Runte von der Firma Miltenyi für die Bereitstellung der Aphereseeinheit und die Übermittlung von Informationsmaterialien bezüglich der LIFE 21 Aphereseeinheit.

Mein Dank gilt auch dem Institut für Klinische Chemie für die laborchemischen Analysen und dem Institut für Pathologie am Klinikum Großhadern für die histologische und pathologische Untersuchung der Organproben.

Zudem gilt mein Dank Frau Antje Uhlig für die Durchführung der APA-Essays und den Tierpflegern des Walther-Brendel-Zentrums für die Betreuung der Versuchstiere.

Abschliessend möchte ich mich bei meinen Eltern, Frau Dr. Birgit Pargner und Herrn Bernd Kolf, für die große Unterstützung während der Entstehung dieser Arbeit und während meines Studiums bedanken.

Eidesstattliche Versicherung

Pargner, Rebecca

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

**Die experimentelle Anwendung der Therasorb LIFE 18™
Immunadsorptionseinheit im Rahmen der xenogenen heterotopen Herztransplantation
Pig-to-Baboon**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Ottobrunn, 06.06.2017

Ort, Datum

Unterschrift Doktorandin/Doktorand